

**UNTERSUCHUNGEN ÜBER DEN EINFLUSS EINES
ORGANSPEZIFISCHEN ANTIGEN AUF DIE ABSTOSSUNG
VON NIERENTRANSPLANTATEN BEI RATTEN**

THOMAS UMSCHIED

1986

Aus der Medizinischen Klinik Innenstadt der Universität München
Direktor: Prof. Dr. E. Buchborn

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DEN EINFLUSS EINES ORGANSPEZIFISCHEN ANTIGEN
AUF DIE ABSTOSSUNG VON NIERENTRANSPLANTATEN BEI RATTEN

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Thomas Umscheid
aus
Dorfprozelten
1986

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. G. H. Thoenes

Mitberichterstatter: Prof. Dr. E. Buchborn
Prof. Dr. A. Baethmann

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 23.07.1986

Meinen Eltern

Abkürzungen

Ag	Antigen
Ak	Antikörper
CFA	Complettetes Freund'sches Adjuvans
CyA	Cyclosporin A (Sandoz)
FITC	Fluorescein-Isothiocyanat
IF	Immunfluoreszenz
MHC	Major Histocompatibility Complex
PBS	Phosphatgepufferte Kochsalzlösung
STBM	Schafttubulusbasalmembran
TBM	Tubulusbasalmembran
TIN	Tubulointerstielle Nephritis

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Einleitung	1
2. Material und Methoden	4
2.1. Tiere	4
2.2. Blutentnahmetechnik	4
2.3. Nierenfunktionsbestimmung	4
2.4. Antikörperbestimmung/Immunhistologie	6
2.5. Histologie	6
2.6. Gewinnung von Tubulusbasalmembran aus Schafnieren (STBM)	7
2.7. Immunisierungsmethode	8
2.8. Transplantationstechnik	8
2.9. Aktives Enhancement	10
2.10. Toleranzinduktion	10
2.11. Behandlung mit Cyclosporin A (CyA)	12
3. Experimenteller Teil	14
3.1. Voruntersuchungen	14
3.1.1. Immunisierung von Ratten des Stammes BN mit STBM zur Induktion einer tubulo- interstitiellen Nephritis (TIN)	14
3.1.2. Nachweis des Tubulusbasalmembran-Antigen (TBM-Ag) an Nierengewebe der verwendeten Rattenstämme	18
3.1.3. Antikörpernachweis bei den Stämmen BN und LEW.1N nach STBM-Immunisierung und nach Nierentransplantation bei BN in LEW.1N	19
3.2. Nierentransplantation ohne organ- spezifisches Antigen: TBM-Ag-negative Niere in einen TBM-Ag-negativen Empfänger (AS in LEW)	21
3.3. Nierentransplantation mit organspezifischem Antigen	28

3.3.1. Tabellarische Übersicht über die Experimente zur Transplantation einer TBM-Ag-positiven Niere in einen TBM-Ag-negativen Empfänger (BN in LEW.1N)	28
3.3.2. Transplantation ohne Modifikation des Empfängers	29
3.3.3. Transplantation nach Enhancement	38
3.3.4. Transplantation nach Toleranzinduktion	44
3.3.5. Transplantation nach Toleranzinduktion und Immunisierung mit STBM	47
3.3.6. Transplantation unter Behandlung mit CyA und Immunisierung mit STBM	49
3.3.7. Transplantation von (BNxLEW.1N)F1-Hybrid-Nieren in LEW.1N und Immunisierung mit STBM	56
3.4. Transplantation einer TBM-Ag-positiven Niere in einen TBM-Ag-negativen Empfänger (Zweite Stammkombination: BDV in LEW.1D)	60
4. Diskussion	62
5. Zusammenfassung	72
6. Literaturverzeichnis	74

1. Einleitung

Bei Nierentransplantationen des Menschen wurden 1973 Antikörper (Ak) an den Tubulusbasalmembran gefunden (15,51). Mit der direkten Immunfluoreszenzhistologie waren lineare Ablagerungen von IgG an den Tubulusbasalmembranen (TBM) der Rinde zu sehen. Antikörper waren auch im Serum nachweisbar. Da die Ak vor der Transplantation nicht vorhanden waren, mußten sie durch die Implantation des neuen Organs entstanden sein. Die klinische und experimentelle Bedeutung dieses relativ selten auftretenden Befundes wurde mit verschiedenen Ansätzen untersucht, jedoch nicht grundsätzlich geklärt (20,21,22,24,27,36,41,44).

Wie beim Menschen, kommt es nach der Transplantation von Nieren bei bestimmten Rattenstämmen zu einem ähnlichen Phänomen: Neben der MHC-abhängigen akuten oder chronischen Transplantatabstoßung kann man bei immunhistologischer Untersuchung der Transplantatniere IgG an der TBM abgelagert finden (13,20,27,44,50). Dieses immunhistologische Bild entspricht dem Befund, den man durch Immunisierung von Meerschweinchen, Mäusen und Ratten mit homologer oder heterologer TBM induzieren kann. Der entstandene Basalmembranantikörper steht in ursächlichem Zusammenhang mit der nach der Immunisierung auftretenden tubulointerstitiellen Nephritis (TIN) (16,22,39,47).

Wir haben uns die Frage gestellt, ob eine solche organspezifische, TBM-gerichtete immunologische Reaktion zusätzlich zur Erkrankung und Aggravierung der Abstoßung des Transplantates beiträgt. Obwohl die autoimmune TIN ein sehr charakteristisches Bild aufweist, könnte der Einfluß von TBM-Antikörpern unter den Bedingungen des normalen Abstoßungsvorganges ein modifiziertes und nicht leicht zu unterscheidendes Bild abgeben.

Die Antwort auf die Frage nach der Bedeutung transplantationsinduzierter TBM-Ak ist auch für die allgemeine Wertung der Autoantikörper bei Autoimmunerkrankungen von

Interesse.

Experimenteller Ansatz

Das autoimmune Krankheitsmodell:

Nur bestimmte Inzuchtstämme der untersuchten Nager (Meerschweinchen, Ratte, Maus) reagieren auf die Immunisierung mit homo- oder heterologer TBM mit der Ausbildung einer TIN. Bei gewissen Unterschieden zwischen den Spezies ist die Erkrankung histologisch und immunhistologisch gut charakterisiert (9,21,23). Die erkrankungsresistenten Stämme bilden in der Regel zwar Ak, lagern diese aber nicht an den TBM ab. Man führt dies auf fehlendes Antigen in den TBM zurück (TBM-Ag-negativ). Außerdem liegt nahe anzunehmen, daß die TBM-Ak für die Pathogenese verantwortlich sind. Untersuchungen von Sugisaki (42) und Bannister (2), wonach TBM-Ag-negative Stämme eine zellulär-immunologische TIN entwickeln, können aufgrund eigener Untersuchungen nicht bestätigt werden.

Das Transplantationsmodell:

BN-Ratten .(Histocompatibilitätsallel: Rt-1(n)) gehören zu den Stämmen, die Träger des organspezifischen TBM-Ag sind (TBM-Ag-pos). Lew.1N-Ratten (Rt-1(n)) tragen dieses Ag nicht (TBM-Ag-neg). Der Inzuchtstamm LEW.1N ist congen-resistent zu Lewis (Rt-1(1)) und MHC-identisch mit BN. LEW.1N und BN unterscheiden sich also nicht durch MHC-Antigene, sondern nur durch schwache (Non-MHC) Transplantationsantigene. Eine Transplantation BN in LEW.1N führt deshalb nur zu einer chronischen Abstoßungsreaktion. In früheren Untersuchungen zum Problem der TBM-Reaktion bei Abstoßung mußte dagegen oft gegen den MHC tranplantiert werden, was keine längerfristigen Verläufe ermöglichte (20).

Der experimentelle Teil der Arbeit gliedert sich in drei

Teile:

1. Voruntersuchungen: Testung der im Labor verfügbaren Rattenstämme auf das TBM-Antigen, Immunisierung von BN mit heterologem TBM-Ag. Vergleich des Beginnes der Ak-Bildung bei transplantierten und immunisierten Tieren.
2. Nierentransplantation bei MHC-identischen und TBM-Ag-negativen Rattenstämmen zur Kennzeichnung der chronischen Abstoßungsreaktion ohne Beteiligung eines organspezifischen Ag (AS in Lewis). Erhebung von funktionellen und histologischen Befunden.
3. Nierentransplantation von MHC-identischen Partnern, die aber TBM-Ag-positiv (BN)(Spender) bzw. TBM-Ag-negativ (Empfänger)(LEW.1N) sind. Im Verlauf der Untersuchungen erwies es sich als wünschenswert zu versuchen, auch die durch Non-MHC-Differenz bedingten Abstoßungsreaktionen zu schwächen oder sogar zu verhindern. Deshalb wurden die biologischen Prinzipien des aktiven Enhancement, wie von THOENES für diese Ratten erarbeitet (45), die Technik der postnatalen Toleranzinduktion (4) und die neuere Möglichkeit der Immunsuppression mit Cyclosporin A (5,28) angewendet, um möglichst frei von Abstoßungsphänomenen die TBM-Reaktion beobachten zu können. Funktionsmessungen werden im Vergleich zur Vorgruppe durchgeführt.

2. Material und Methoden

2.1. Tiere

Für die Versuche werden Inzuchtrattenstämme verwendet die seit ca. 15 Jahren im Tierstall des Immunbiologischen Labor der Medizinischen Klinik Innenstadt, München gezüchtet werden. Die Zuchtkerne wurden damals von GÜNTHER am Max-Planck-Institut für Immunbiologie in Freiburg erhalten.

Die Vermehrung erfolgte seither ausschließlich durch Bruder-Schwesterverpaarung. Die genetische Reinheit wurde regelmäßig durch Hauttransplantationen überprüft. Die Haltung erfolgt unter konventionellen hygienischen Bedingungen getrennt von anderen kommerziellen Versuchstieren. Wasser und Futter steht den Tieren ad libitum zur Verfügung. Die für die Versuche verwendeten Tiere waren ausschließlich männlich, hatten bei Versuchsbeginn ein Alter von ca. 5 Monaten und wogen ca. 300g.

2.2. Blutentnahmetechnik

Die Tiere werden mit Äthyläther narkotisiert und auf dem Rücken liegend fixiert. Mit einem kurzen Schnitt werden die Haut der Leistenbeuge eröffnet und die Blutgefäße frei präpariert. Das Blut wird venös über eine 18er Kanüle mit einer 1ml Tuberkulinspritze entnommen und die Wunde mit 3-4 Stichen verschlossen. Nach der Gerinnung gewinnt man ca. 0.5ml Serum pro Tier. Für die Enhancementversuche wurden die Tiere abdominal eröffnet und über die Aorta von der Bifurcation entblutet. Je nach Größe gewinnt man auf diese Weise 7-8ml Blut.

2.3. Nierenfunktionsbestimmung

Urinparameter:

Zur Bestimmung der Urinparameter werden die Ratten für 16 Stunden in Stoffwechselkäfige (ohne Wasser und Futter) gesetzt. Während dieser Zeit wird der Urin, vor Verdunstung geschützt, in einem Erlenmayerkolben gesammelt. Mittels der Biuret-Methode wird der Proteingehalt gemessen und auf das 16 Stundenvolumen berechnet.

Die Urinosmolalität wird nach der Methode der Gefrierpunktserniedrigung (Mikroosmometer, Firma Knauer) bestimmt.

Harnpflichtige Substanzen:

Kreatinin und Harnstoff wurden mit einem Autoanalyser (Firma Hitachi) im Zentrallabor der Medizinischen Klinik Innenstadt, mit freundlicher Genehmigung durch Herrn Prof.Dr.Horn, durchgeführt. Die Kreatininbestimmung erfolgt dabei mit der Jaffe-Methode, die Ermittlung der Harnstoffwerte durch einen kinetischen UV-Test. Zur Präzisionskontrolle dient Precinorm S Kontrollserum (Boehringer, Mannheim).

Normalwerte für Lewis und LEW.1N zeigt die Tabelle 1.

Tabelle 1: Normalwerte für Lewis und LEW.1N

	Lewis n=10	LEW.1N n=10
Osmolalität mosmol/l	1990 +/-470	1900 +/-310
Proteinurie mg/16 h	5.1 +/-1.0	5.1 +/-1.5
Harnstoff mg/dl	17.7 +/-1.9	18.9 +/-1.5
Kreatinin mg/dl	0.56 +/-0.006	0.51 +/-0.004

2.4. Antikörperbestimmung/Immunhistologie

Gefrierschnitte von ca. vier Mikrometer Dicke werden auf Objektträgern getrocknet und anschließend in PBS gewässert. Zum Nachweis von in vivo gebundenen Antikörpern wird der Schnitt in einer feuchten Kammer mit FITC-anti-Ratten-IgG (IgM) (Firma F.A.Cappel Labs) für 30 Minuten inkubiert. Nach erneutem Wässern wird das Präparat mit einer Glycerin-PBS-Lösung (1:9) eingedeckt. Die Befundung erfolgt mit einem ZEISS-Auflicht-Fluoreszenzmikroskop. Fotografiert wird mit 24 DIN-Tageslicht-Farbfilm (EPD-Kodak) und automatischer Belichtung.

Für die Bestimmung von Serumantikörpern (indirekte IF) werden Gefrierschnitte normaler BN-Rattennieren verwendet. Man inkubiert den Schnitt hierbei dreißig Minuten mit dem antikörperhaltigem Serum und verfährt weiter wie oben beschrieben.

Antikörpertitration

Die zu testenden Seren werden mit beschriebener indirekter Immunfluoreszenz in 1:3 Verdünnungsreihe untersucht. Als Endtiter wurde die Verdünnungsstufe gewählt bei der noch eine deutliche Immunfluoreszenz der Basalmembranen zu sehen war.

2.5. Histologie

Die Nieren wurden nach der Entnahme in 4%iger gepufferter Formalinlösung fixiert. Die weitere Aufarbeitung und Befundung erfolgte freundlicherweise durch Herrn Prof. Dr. K.H. Langer, Abteilung für Pathologie der Firma Hoechst AG. Die aufgearbeiteten Schnitte wurden zur Verfügung gestellt, so daß die Befunde selbständig erhoben werden konnten. Die fotografische Dokumentation wird mit einem Schwarzweiß- bzw. Farbfilm der Fa. Agfa bzw. Fa. Kodak angefertigt.

2.6. STBM-Präparation

Die Herstellung der TBM wurde nach Anleitung durch Labor-mitarbeiter durchgeführt. Die Methode basiert auf der in der Dissertation von KRIEGER (16) ausgearbeiteten Methode durchgeführt, bei der auf publizierte Präparationsverfahren Bezug genommen wurde.

Frische Schafnieren werden längs halbiert und die Rinde mit einer Schere entlang der Mark - Rindengrenze entfernt. Das Mark wird verworfen. Die Rindenstücke werden grob mit einer Schere zerkleinert und in eisgekühltes PBS (pH 7.2) eingebracht. In Portionen von ca 40 g wird das Material durch ein Sieb mit einer Porengrösse von 125 Mikrometer (Fa. Bachhofer, Reutlingen) gestrichen. Es wird wiederholt mit PBS nachgewaschen. Durch diesen Vorgang gelangen die Glomeruli durch das Maschengitter hindurch, während die Tubuli und das Bindegewebe auf dem Sieb hängen bleiben.

Dieses Gemisch wird abgespült in ein Becherglas. Nach dem Sedimentieren saugt man den Überstand ab und zerkleinert das Sediment mit einem Potter-Elvehjem Homogenisator (Fa. Braun, Melsungen). Das Homogenat wird in eiskaltem PBS gewaschen und zentrifugiert (je zehn Minuten bei 1500 rpm) bis der Überstand klar ist. Das Sediment wird mit einem Ultraschallgerät (Fa. Brandson) beschallt. Um eine zu starke Erwärmung des Materials zu verhindern, erfolgt die Beschallung in Schritten von zwei Minuten Dauer unter Eiskühlung. Das Beschallen wird solange fortgesetzt, bis unter mikroskopischer Kontrolle nur Basalmembranfragmente und keine soliden Zellverbände mehr zu erkennen sind. Danach wird das Material zunächst in eine 1 Molare NaCl-Lösung überführt, um dann schrittweise über absteigende NaCl-Konzentrationen und PBS in aqua dest. eingebracht zu werden. Zu diesem Zwecke wird mehrmals mit 3000 rpm für zehn Minuten zentrifugiert. Die auf diese Weise erhaltenen Basalmembranen werden gefriergetrocknet und bei -4 Grad Celsius aufbewahrt.

Auf diese Weise läßt sich aus 500 g Nierenrindenbrei ca. 1g

lyophilisierte Basalmembranen gewinnen.

2.7. Immunisierungsmethode

Eine Immunisierung von Ratten mit TBM wurde zur Induktion einer TIN, zur Gewinnung von Positivseren für die IIF und als Vorimmunisierung und Nachimmunisierung für einige Transplantationsexperimente benötigt. Die verwendete Antigenmenge beträgt 10mg lyophilisierte TBM pro Tier.

Die trockene TBM wird in 0,9%iger NaCl-Lösung suspendiert. Über ein Drei-Wege-Hahn-System mit zwei Spritzen wird mit gleichem Volumen kompletten Freund'schen Adjuvans solange gemischt, bis eine stabile Emulsion entstanden ist (Tropfenprobe auf Wasser). Die Injektion des inkorporierten Antigen erfolgt in Narkose subcutan in die Hinterpfoten der Tiere (plantar). Es wird dabei darauf geachtet, daß ein langer Stichkanal entsteht, um somit alles Emulgat sicher zu deponieren (pro Hinterpfote 0,2ml Emulgat).

In allen Versuchen wird den Tieren Pertussisvaccine (0,25ml pro Pfote) als zweites Adjuvans in die Vorderseite der Hinterpfote appliziert.

2.8. Transplantation

Die Transplantationen wurden nach der von LEE eingeführten Technik (19) und Modifikationen von THOENES (46) vom Verfasser dieser Arbeit ausgeführt.

A. Entnahme der Spenderniere

In Äthernarkose wird nach transabdominellem Zugang der rechte Ureter frei präpariert, etwa in der Mitte seines Verlaufes untergebunden und distal davon durchgetrennt. Die großen Bauchgefäße sowie die Nierengefäße werden von Fett- und Bindegewebe befreit, seitliche Gefäße unterbunden und

durchtrennt. Hierauf erfolgt die getrennte Ligatur der großen Bauchgefäße distal des Abganges der Nierengefäße. Mit kalter 0.9%iger NaCl-Lösung (Zugabe von ca. 20 I.E. Heparin auf 5ml NaCl) wird die Niere von der Aorta her mit einer Spritze perfundiert, wobei die Lösung aus der Niere über die Vena Cava nach kranial abfließen kann. Die großen Bauchgefäße werden proximal des Abganges der Nierengefäße durchtrennt, so daß zwei offene und distal unterbundene Gefäßstümpfe entstehen. Die Niere wird stumpf aus ihrem Lager herausgelöst und in kalter NaCl-Lösung aufbewahrt. Die Präparationsdauer beträgt 10-15 Minuten.

B. Implantation der Niere

Der rechte Ureter des Empfängers wird wie oben präpariert, unterbunden und proximal der Unterbindung durchtrennt. Die Gefäße der rechten Niere werden zusammen ligiert und die Niere unter Zurückstreifen der Kapsel entfernt.

Aorta und Vena Cava werden unmittelbar distal des Abganges der Nierengefäße bis zur Bifurkation der Gefäße frei präpariert und von einander getrennt. Mit einer nicht traumatisierenden gebogenen Klemme werden die beiden Gefäße so gefaßt, daß ausreichende Anteile exponiert werden, um dort sagittale Anastomosenschnitte setzen zu können. Die Durchblutung des Darmes und der linken Niere bleibt frei. Es erfolgt die Anastomose der Spenderaorta mit der Empfängeraorta: Aus dem Empfängergefäß wird ein kleiner, längsovalärer Patch entfernt. Nach dem Anbringen zweier Polnähte, werden durch zwei fortlaufende Nähte mit Nadelfadenkombinationen der Stärke 9-0 (Ethicon) die beiden Aorten End zu Seit anastomosiert. In gleicher Weise wird mit den Venae Cavae verfahren, mit dem Unterschied, daß eine der Nähte auf der Gefäßinnenseite zu liegen kommt. Während dieses gesamten Vorganges wird die Niere mit kalter NaCl-Lösung betropft. Nach dem Öffnen der Klemme folgt in aller Regel sofort die hellrote Färbung der guten Durchblutung. Die beiden Ureterenenden werden unter dem Stereo-Operationsmikroskop, über einen Polyäthylenkatheter zur

Offenhaltung des Lumens verbunden. Dazu werden ca. 7 bis 8 Einzelknopfnähte mit Faden der Stärke 11-0 benötigt. Der Katheter wird mit einem Stich an der Ureterwand fixiert und verbleibt in situ.

Die linke Empfängerniere wird als letztes in gleicher Weise wie die rechte entfernt, wobei der Ureter in die Gefäßunterbindung einbezogen wird.

Die Gesamtdauer der Operation beträgt ca. 2 Stunden, wobei auf die kalte Ischämiezeit ca. 50 Minuten entfallen. Narkotisiert werden die Tiere mit Narkoseäther der Fa. Hoechst AG. 12 Stunden nach der Operation befinden sich die Tiere in der Regel wieder in einem unauffälligen Zustand.

2.9. Aktives Enhancement

Von BN-Tieren wird durch Punktion der Bauchaorta Heparinblut gewonnen. Nach Zentrifugation bei 800 rpm wird das Plasma verworfen und die korpuskulären Blutbestandteile in gekühlter Kochsalzlösung resuspendiert und erneut zentrifugiert. Der Überstand wird abgesaugt und der Vorgang wie oben beschrieben wiederholt.

Jeweils 1 ml des hauptsächlich aus Erythrozyten bestehenden Sedimentes wird ca. acht Wochen alten LEW.1N-Tieren intravenös injiziert. Nach drei Wochen werden die Tiere noch einmal mit der gleichen Menge behandelt. Die so vorbereiteten Ratten erhalten nach weiteren drei Wochen eine BN-Niere implantiert.

2.10. Toleranzinduktion

Gewinnung der Spenderlymphozyten

Von 3-6 Monate alten Ratten (LEW.1NxBN)F1 werden Milz Axillar- und Mesenteriallymphknoten, sowie Femur und Tibia entnommen und in gekühlte Hank'sche Lösung eingebracht. Milz und

Lymphknoten werden in der Lösung mit zwei spitzen Pinzetten fein zerzupft, die Knochen mit einer Spritze mit Hank'scher Lösung durchspült, so daß das Knochenmark in einer Petrischale aufgefangen werden kann. Mit einer Pipette wird die Zellsuspension unter Zurücklassung grober Gewebsanteile in Reagenzgläser überführt. Anschließend erfolgt eine Zentrifugation für zehn Minuten bei 800 rpm. Der Überstand wird abgesaugt, das Sediment nochmals in Hank'scher Lösung aufgelöst und erneut zentrifugiert. Danach werden die Lymphozyten in wenig Lösung suspendiert und in einer Neubauer-Zählkammer die Anzahl der Zellen pro ml bestimmt.

Injektion der Lymphozyten

Für die Toleranzinduktion verwendet man 12-24 Stunden alte BN-Rattenbabies. Aus einer 1ml Glasspritze wird mit einer 22er Kanüle unter Lupensicht jeweils 0,1ml der Zellsuspension in die Augen- oder Unterkiefervene injiziert. Es wird dabei darauf geachtet, daß das gesamte Material intravenös appliziert wird, was am einwandfreien Abfluß der Suspension in der Vene zu erkennen ist. Sofort nach der Injektion werden die Babies wieder zum Muttertier verbracht.

Man verabreicht etwa 500 Millionen Zellen pro Tier.

Toleranzkontrolle

Die Prüfung der Toleranz erfolgt mit Hilfe von Hauttransplantaten, sobald die Tiere ein Alter von 6 Wochen erreicht haben. Es wird wie folgt verfahren: Von einem gleichaltrigen LEW.1N-Tier werden Hautstückchen mit einem Durchmesser von einem Zentimeter gewonnen und die spiegelnde Fascie möglichst entfernt. Jeweils ein Stück wird, nach Entfernung eines entsprechenden Areals, seitlich thorakal hinter den Vorderläufen des potentiell toleranten Tieres mit wenigen Nähten befestigt. Auf der Gegenseite wird ein Transplantat eines BN-Tieres in gleicher Weise zur Kontrolle implantiert. Anschließend werden beide Transplantate mit einem circulären Verband für 14 Tage abgedeckt.

Ein BN-Tier wird als tolerant für LEW.1N betrachtet, wenn das Hauttransplantat nach 4-5 Wochen keinerlei Abstoßungsreaktion und eine gute Behaarung zeigt (Abbildung 1,2).

2.11. Behandlung mit Cyclosporin A

Herstellung der Emulsion

Die erforderliche Menge des Peptides wird in handelsüblichem, kaltgepressten Olivenöl gelöst, so daß für jedes Tier die erforderliche CyA-Menge in 0,5 ml Öl enthalten ist. Das Auflösen erfolgt durch einen Magnetrührer und ist nach einer Stunde abgeschlossen. Nach Wassef und and. (48) werden für jedes Tier 10 mg/kg Körpergewicht CyA verabreicht (CyA wurde von der Fa. Sandoz, Basel zur Verfügung gestellt).

Applikation:

Die Tiere werden in einen kurzen Ätherrausch versetzt. Mit einer Knopfsonde wird der Ösophagus sondiert und 0,5 ml der Emulsion mit einer Spritze direkt in den Magen verabreicht.

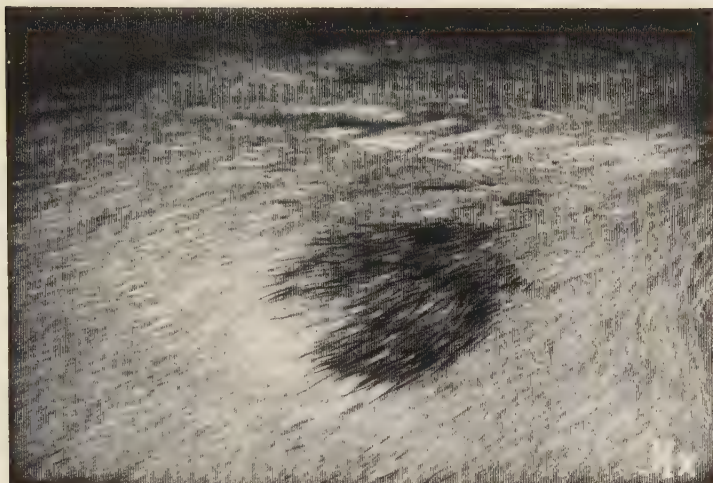


Abb.1: Hauttransplantat bei einem toleranten Tier nach 5 Wochen (BN auf LEW.1N)

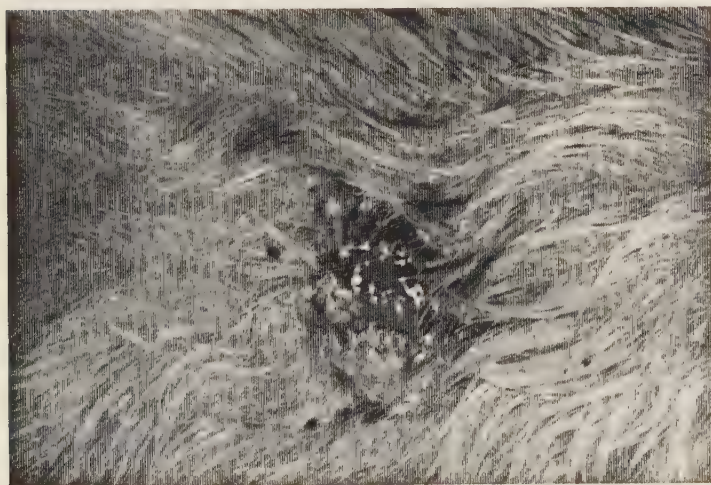


Abb.2: Abstoßung eines Hauttransplantats nach 3 Wochen bei einem nicht toleranten Tier (BN auf LEW.1N)

3. Experimenteller Teil

3.1. Voruntersuchungen

3.1.1. Immunisierung von Ratten des Stammes BN mit STBM zur Induktion einer tubulointerstitiellen Nephritis

Sechs BN-Ratten werden mit STBM in CFA und mit Pertussisvaccine immunisiert. Nach 10 Tagen werden die Nieren entnommen und licht- und immunhistologisch untersucht.

Ergebnis:

Makroskopie: Die Nieren von fünf der sechs Tiere zeigen an der Oberfläche unterschiedlich große, zum Teil konfluierende gelblich-weiße Herde, die leicht erhaben sind. Aus anderen Untersuchungen im Labor ist bekannt, daß die Nieren zu diesem oder einem späteren Zeitpunkt auch diffusen Befall aufweisen können.

Histologie: In der Übersicht sieht man ausgeprägte, herdförmige Zellinfiltrate in der Rinde, wobei das subkapsuläre Drittel bevorzugt ist (Abb.3). Die Glomeruli sind völlig frei. Das Infiltrat besteht hauptsächlich aus Granulozyten (Abb.4). Die Tubuluszellen zeigen ein vakuolisierendes Zytoplasma und die Kerne sind z.T. pyknotisch verändert.

Immunhistologie: Immunhistologisch sieht man an der proximalen TBM der Nierenrinde lineare Anfärbung mit IgG. Es besteht eine scharfe Grenze zum Mark, Glomeruli und Gefäße bleiben ausgespart (Abb.5,6). In den histologisch stark betroffenen Gebieten finden sich Basalmembranabbrüche bzw. gestauchtes, verdicktes Basalmembranmaterial. In den weniger betroffenen Abschnitten erscheint die TBM gestaltlich unverändert.

Aus Untersuchungen von THOENES und auch TATSCH (43) entnehme ich die Beschreibung des histologischen Befundes nach 20-30 und 60 Tagen: Nach 20 Tagen werden die Granulozyten von Lymphozyten, Histiozyten und Plasmazellen abgelöst. um zerstörte Tubuli finden sich eptitheloidzellige Formationen

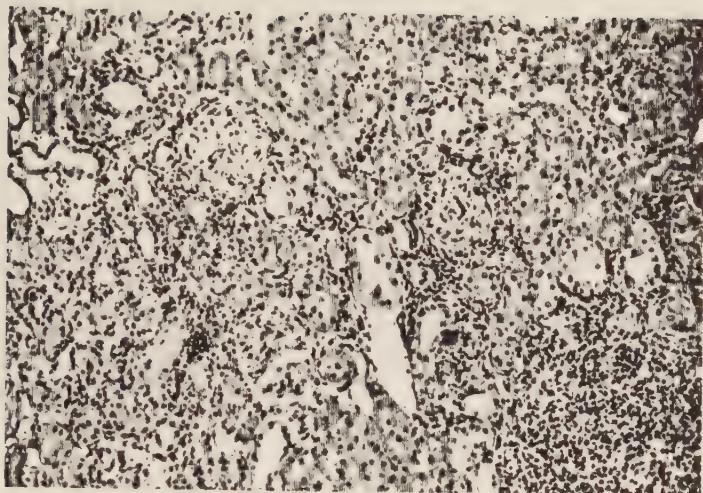


Abb.3: TIN am 15. Tag (Übersicht)

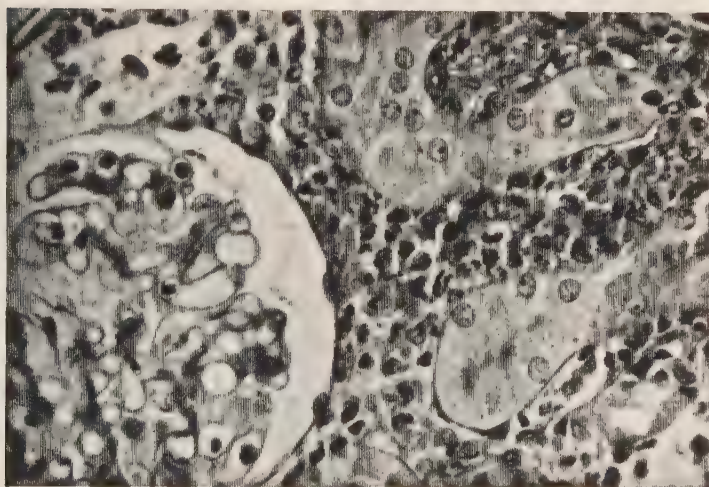


Abb.4: Granulocytäres Infiltrat bei TIN am 15. Tag

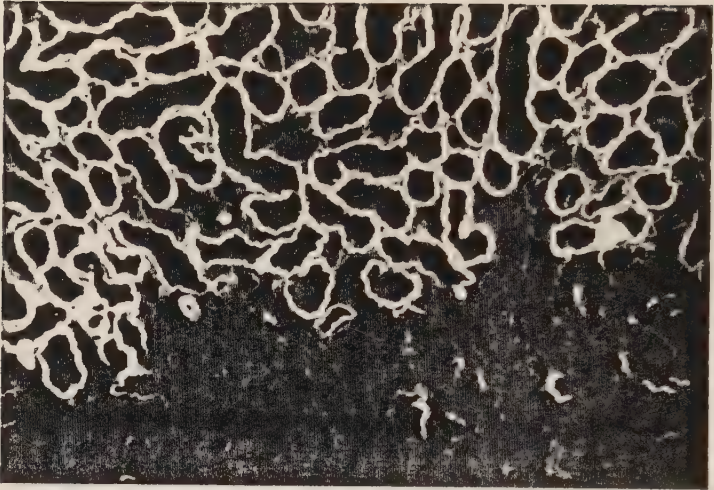


Abb.5: Immunhistologie bei TIN (Übersicht)

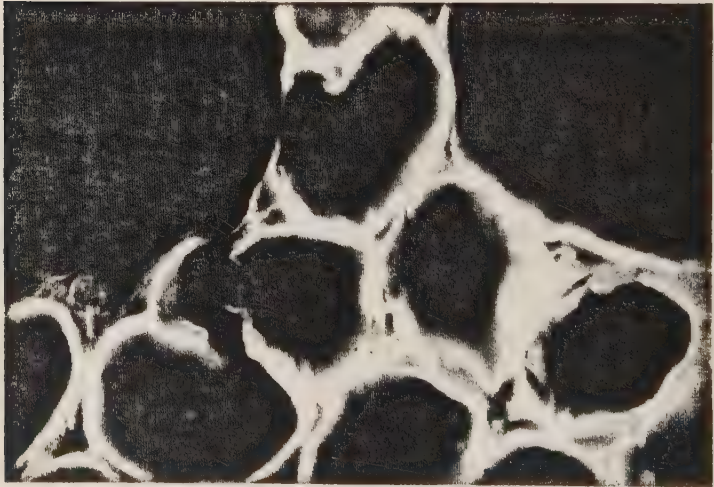


Abb.6: Immunhistologie bei TIN: Positive TBM, negative Glomeruli

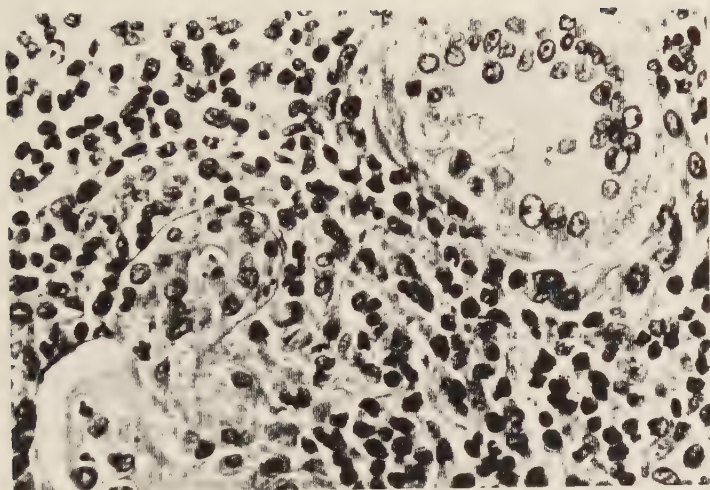


Abb.7: Riesenzelle bei einer TIN am 20. Tag

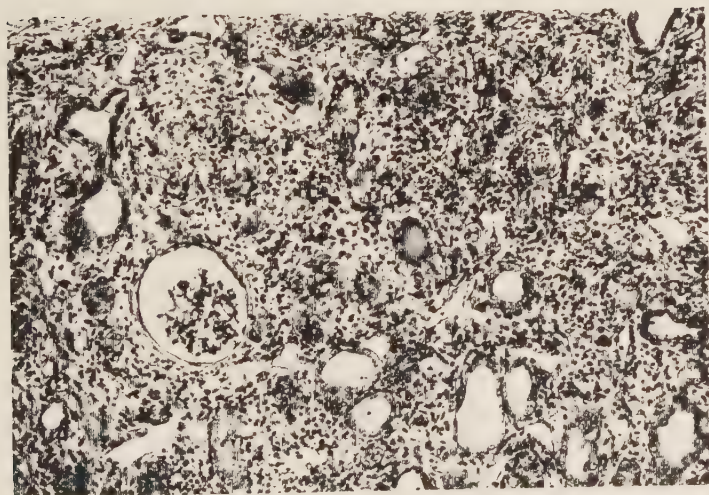


Abb.8: Beginnende Fibrosierung bei einer TIN am 40. Tag

und Langhans'sche Riesenzellen (Abb.7). Zu späteren Zeitpunkten tritt das zelluläre Infiltrat in den Hintergrund und wird durch eine interstitielle Fibrose ersetzt (Abb.8). Immunhistologisch sind solche Bezirke mit starker Fibrose durch TBM-freie Herde gekennzeichnet.

3.1.2. Nachweis von Tubulusbasalmembran-Antigen an Nierengewebe der verwendeten Rattenstämme

Um nachzuweisen welche der im Labor verfügbaren Rattenstämme das TBM-Ag tragen, werden von Nieren aller Stämme Gefrierschnitte angefertigt und mit Serum von TBM-immunisierten BN-Ratten (Positivserum) inkubiert. Mittels der indirekten IF werden die Schnitte beurteilt.

Ergebnis:

Die Stämme BDV, BN und BNxLEW.1N zeigen, bei Inkubation mit einem Serum gegen die TBM, eine lineare IF entlang der proximalen Tubuli. Die Stämme AS, LEW, LEW.1D und LEW.1N zeigen keine IF, ebenso der mitgeführte Kontrollschnitt, der mit dem Serum eines unbehandelten BN-Tieres inkubiert wurde (Tabelle 2).

Tabelle 2: Ratteninzuchtstämme und ihre Charakterisierung

Stamm \ Genetik	Genetik	TBM-Ag	TBM-Ak-Bildung	Fähigkeit zur TIN-Reaktion (16)
AS	Rt-1(1)	neg	pos	---
Lewis	Rt-1(1)	neg	pos	neg
BN	Rt-1(n)	pos	pos	pos
LEW.1N	Rt-1(n)	neg	pos	neg
BDV	Rt-1(d)	pos	pos	neg
LEW.1D	Rt-1(d)	neg	pos	neg

3.1.3. Antikörpernachweis bei den Stämmen BN und LEW.1N nach STBM-Immunisierung und nach Nierentransplantation (BN in LEW.1N)

a) 5 LEW.1N-Ratten werden mit STBM immunisiert. Nach 4, 8, 20, 30 und 90 Tagen wird Blut entnommen und das Serum mit Hilfe der indirekten IF an BN-Nierenschnitten auf Antikörper gegen die TBM untersucht und titriert.

b) Von vier transplantierten LEW.1N-Ratten (mit BN-Niere), ohne jegliche Vorbehandlung, wird am 4., 8., 20., 30. und 90. Tag nach Transplantation Blut entnommen und das Serum wie unter a) getestet.

Ergebnisse:

Wie aus Tabelle 3 ersichtlich kommt die Ak-Produktion bei den transplantierten Tieren langsamer in Gang. Die Verzögerung bewegt sich im Bereich von etwa fünf Tagen. Bei beiden Gruppen von Tieren zeigt sich nach 15 Tagen die erwartete lineare IF mit Antiratten-IgG entlang der Basalmembran von BN-Gefrierschnitten. Die Antikörper bleiben sowohl bei den immunisierten als auch bei den transplantierten Tieren über den gesamten Beobachtungszeitraum erhalten.

Tabelle 3: Ak-Bildung nach Immunisierung bei BN und LEW.1N, sowie nach Transplantation von BN in LEW.1N

Tage nach Immunisierung/Transplantation						
Versuch \	4	8	10	20	30	90
STBM in BN (16)	0	+	+	+	+	+
STBM in LEW.1N (n=5)	0	+	+	+	+	+
Transplantation BN/LEW.1N (n=4)	0	0	(+)	+	+	+

Legende Tab.3: + :deutliche TBM-Fluoreszenz
(+):sehr schwache TBM-Fluoreszenz
0 :keine Fluoreszenz

Bei der Titration der Antikörper zeigt sich bei allen Gruppen, daß ein Maximaltiter von etwa 1:243 erreicht wird. Im Laufe des Beobachtungszeitraumes nimmt der Titer um etwa eine Verdünnungsstufe (auf 1:81) ab.

Aus den qualitativen und quantitativen Bestimmungsversuchen muß man jedoch entnehmen, daß es sich nur um Annäherungswerte handeln kann, die keine entscheidenden Schlüsse über den Antikörperverlauf zu lassen.

3.2. Nierentransplantation ohne organspezifisches Antigen: TBM-Ag-negative Niere in TBM-Ag-negativen Empfänger (AS in Lewis)

Zur funktionellen und morphologischen Untersuchung einer chronischen Abstoßung ohne TBM-Reaktion wird die Niere eines AS-Tieres in Lewis transplantiert. Da die Stämme MHC-identisch sind, ist eine schwache Abstossungsreaktion zu erwarten.

Für diese Versuch werden 20 Tiere transplantiert. Der Beobachtungszeitraum erstreckt sich bei 12 Tieren über mindestens 6 Monate, wobei 5 Tiere länger als ein Jahr beobachtet wurden. Zur morphologischen Untersuchung der Nieren werden Tiere nach 10, 20, 30, 60 Tagen und 6 Monaten getötet. Funktionelle Untersuchungen auf Proteinurie, Urinosmolalität, Harnstoff und Kreatinin wurden monatlich durchgeführt.

Ergebnisse:

Kein Tier mußte wegen klinischer Komplikationen vorzeitig getötet werden.

Funktionelle Untersuchungen: Abb.9-12.

Osmolalität: Die Urinosmolalität ist, wie die Abbildung zeigt, ebenso wie bei syngen transplantierten Tieren, gegenüber nicht-transplantierten Normaltieren (Tab.1) geringfügig erniedrigt.

Proteinausscheidung: Die Proteinausscheidung steigt im Laufe des Beobachtungszeitraumes von leicht erhöhten Werten am Beginn auf das 6fache des Normalwertes (Tab.1) am Ende des Beobachtungszeitraumes. Die Werte der syngen Kontrolltiere bleiben im Normbereich.

Harnstoff und Kreatinin: Beide Parameter zeigen sich leicht erhöht gegenüber der nichttransplantierten Kontrollgruppe, sind jedoch kaum höher als bei transplantierten syngen Kontrollen.

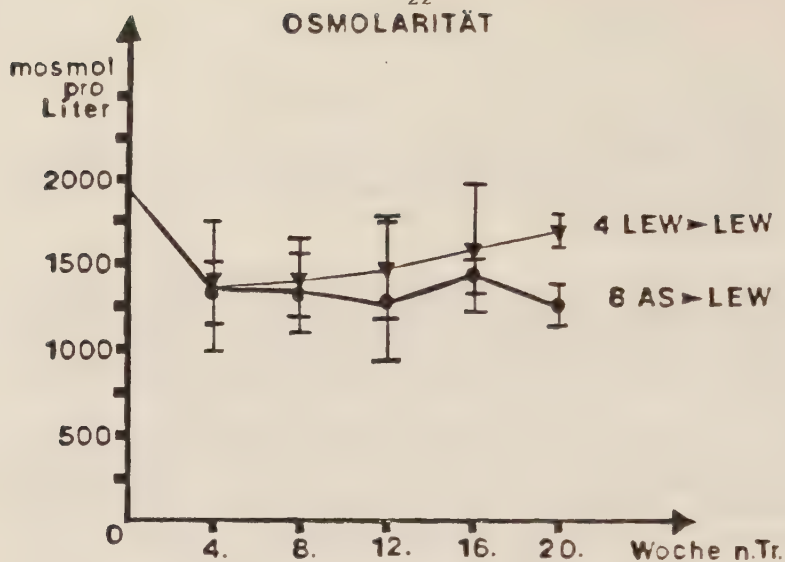


Abb.9: Osmolarität bei AS in LEW. Vergleich
mit syngener Kombination

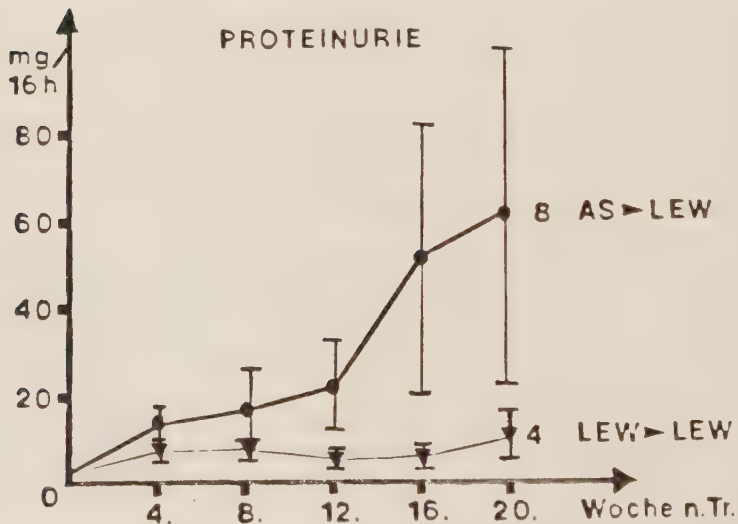


Abb.10: Proteinurie bei AS in LEW. Vergleich
mit syngener Kombination

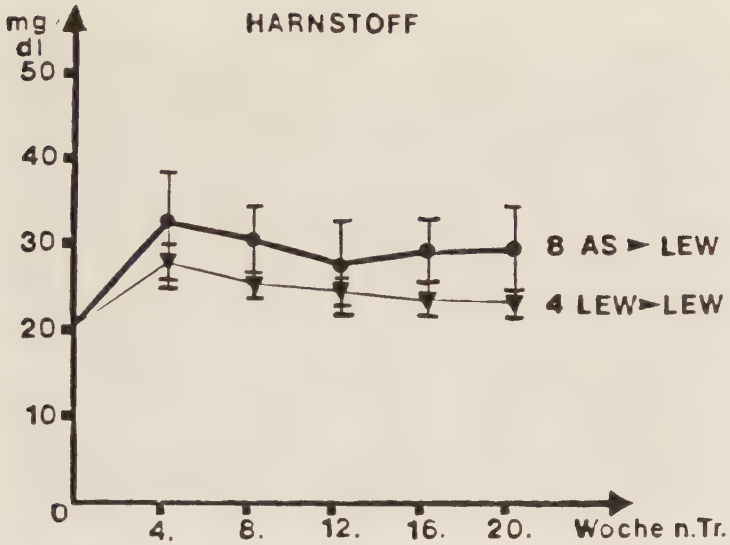


Abb.11: Harnstoff bei AS in LEW. Vergleich
mit syngener Kombination

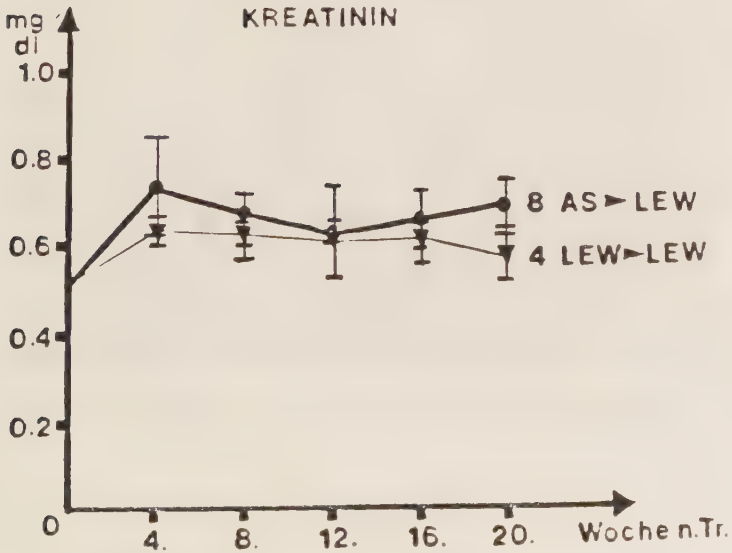


Abb.12: Kreatinin bei AS in LEW. Vergleich
mit syngener Kombination

Morphologische Befunde

1) Makroskopisch: Die Nieren der bis zum 60.ten Tag getöteten Tiere sind makroskopisch unauffällig, wenn man von einer kompensatorischen Hypertrophie absieht. Im Gegensatz dazu ist die Oberfläche der nach 6 und mehr Monaten untersuchten Nieren feinhöckerig verändert. Auch hier ist eine kompensatorische Hypertrophie zuerkennen. Die Schnittfläche erscheint in beiden Fällen makroskopisch normal.

2) Immunhistologie: Der Nachweisversuch von IgG ist am gesamten Nierengewebe negativ. Bei der Färbung mit Antiratten-IgM finden sich feine Anfärbungen in den Glomeruli und an Gefäßen.

3) Histologie: Die histologische Beurteilung erfolgt in Phasen.

A) Bis 60 Tage nach Transplantation: Die Übersicht zeigt eine teils diffuse, teils herdförmige Verteilung rundzelliger Infiltrate um Tubuli und in der Nähe von Gefäßen der Rinde. Das Mark ist frei. In den peritubulären Kapillaren sind gelegentlich Granulozyten zu sehen. Nicht mehr ganz frische Phasen zeigen Tubulusatrophien. Die Glomeruli zeigen fokal sklerosierende Veränderungen. Die Gefäße sind nicht verändert. Riesenzellen sind nicht nachweisbar (Abb 13,14).

B) Bis 6 Monate nach Transplantation: Im histologischen Bild ist die bereits makroskopisch festgestellte höckerige Struktur der Nierenoberfläche zu erkennen. Das Übersichtsbild zeigt herdförmige Tubulusatrophien. Man findet peritubuläre Zellinfiltrate (Lymphozyten, Histiozyten und wenige Plasmazellen). Im Gegensatz zur frühen Phase besteht eine Bindegewebsvermehrung im Interstitium.

Zellinfiltrate finden sich weiterhin um Venen und Arterien, besonders entlang der Mark-Rindengrenze. Die Lichtungen der Tubuli und der Harnkanälchen sind zum Teil mit scholligen Eiweißablagerungen gefüllt. Wie in der frühen Phase sind die Glomeruli weitgehend verändert, wenn man von der sekundären

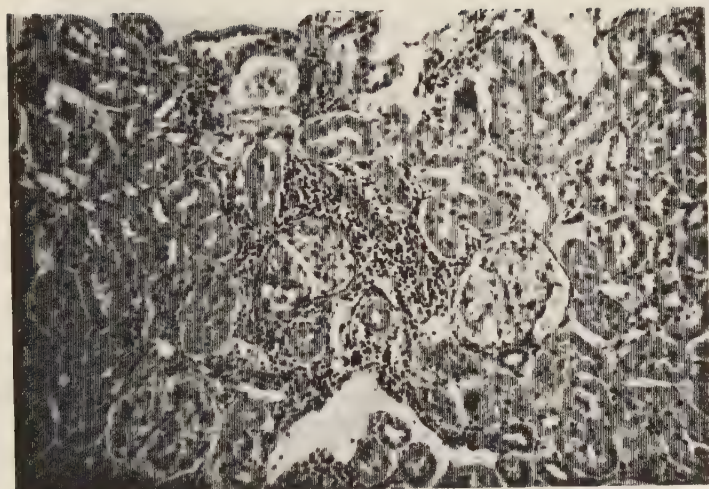


Abb.13: AS in Lewis am 15. Tag

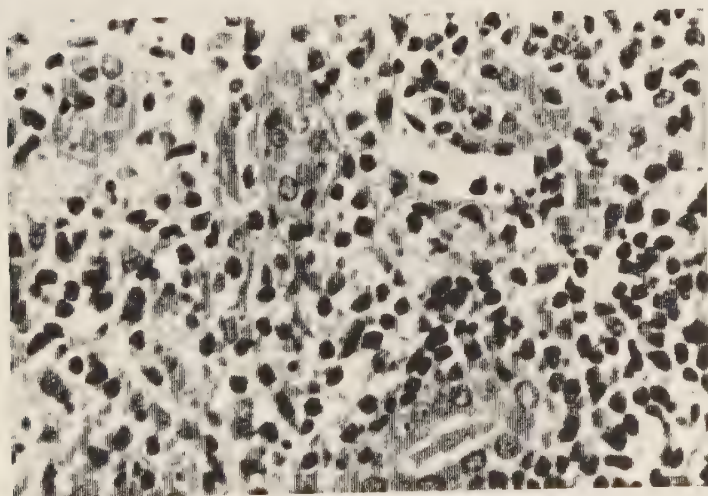


Abb.14: Detail des Infiltrates von AS in Lewis am
15. Tag

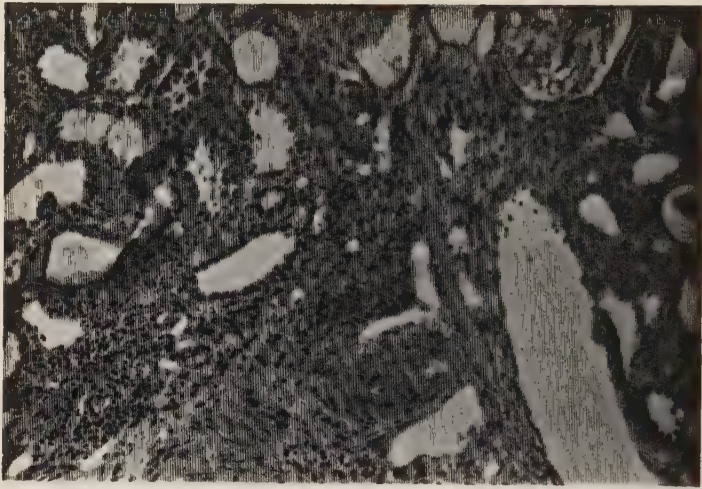


Abb.15: AS in Lewis nach 20 Wochen

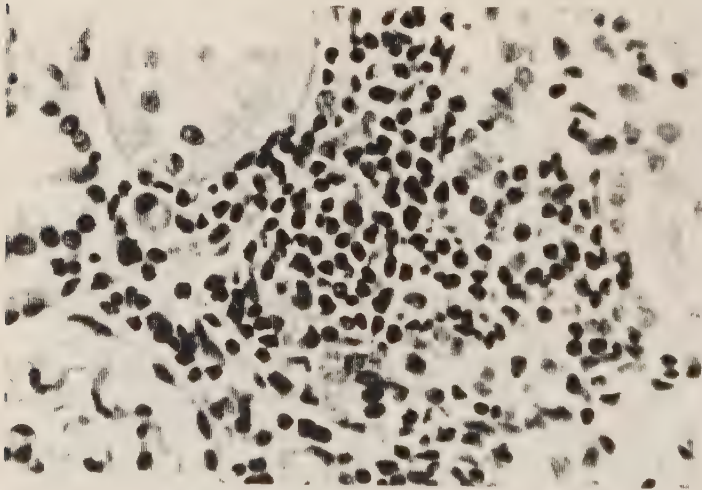


Abb.15b: Infiltrat von AS in Lewis nach 20 Wochen

Atrophie absieht. An einigen Gefäßen ist eine geringgradige Arteriitis zu erkennen (Abb.15a,b,16)

Gesamtbeurteilung: Die beschriebenen Befunde stellen das Bild einer milde verlaufenden chronischen Transplantatabstoßung dar, die nach einer zellreichen Anfangsphase in einen Zustand mit bindegewebigem Umbau und weniger zellulären Infiltraten übergeht.

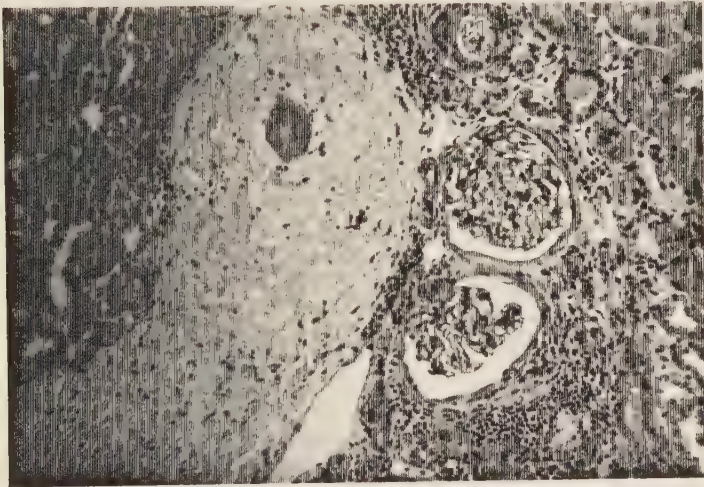


Abb.16: Arteriitis bei AS in Lewis (20 Wochen)

3.3. Nierentransplantation mit organspezifischem Antigen TBM-Ag-negativen Empfänger (BN in LEW.1N)

3.3.1. Tabellarische Übersicht über die Experimente zur Transplantation einer TBM-Ag-positiven Niere in einen TBM-Ag-negativen Empfänger (BN in LEW.1N)

In dieser Versuchsreihe wird die Niere eines antigen-positiven BN-Spenders in einen antigen-negativen LEW.1N-Empfänger transplantiert. Diese Grundkonstellation erfährt in den unter diesem Punkt subsummierten Versuchen einige Veränderungen, die die chronische Abstoßungsreaktion vermindern oder unterdrücken sollen. Eine Übersicht ergibt Tabelle 3.

Tabelle 3:

Experiment	Spender	Empfänger	Modifikation	Tierzahl
3.3.2.	BN	LEW.1N	-----	23
3.3.3.	BN	LEW.1N	zweimalige, allo- gene Blutgabe für LEW.1N	9
3.3.4.	BN	LEW.1N	Toleranzinduk- tion gegenüber LEW.1N	7
3.3.5.	BN	LEW.1N	Toleranzinduk- tion und TBM- -Immunisierung	5
3.3.6.	BN	LEW.1N	10-tägige CyA- Behandlung und TBM-Immunisier.	12
3.3.7.	BNxLEW.1N	LEW.1N	+TBM-Immunisier.	10

3.3.2. Transplantation ohne Modifikation des Empfängers

Diese Versuche bilden ein Kernstück der Arbeit. Es werden deshalb mehr Tiere transplantiert als in den anderen Versuchen, um den histologischen und immunhistologischen Verlauf der Abstoßungsreaktion beobachten zu können. Transplantiert wird in zwei Gruppen: Bei einer Gruppe (A) wird der postoperative Verlauf ohne Eingriff beobachtet (13 Tiere), die Tiere der anderen Gruppe (B) werden nach 10 bzw. 20 Tagen getötet (5 Tiere), um Aufschluß über frühzeitige Veränderungen zu erhalten.

Ergebnisse:

Im postoperativen Verlauf der Gruppe A versterben 9 der 13 Tiere innerhalb von 2-4 Wochen. Vier Tiere überleben diesen Zeitraum. Technische Mängel oder Fehler, die zu einer solchen Verteilung führen könnten, sind ausgeschlossen (Abb. 17).

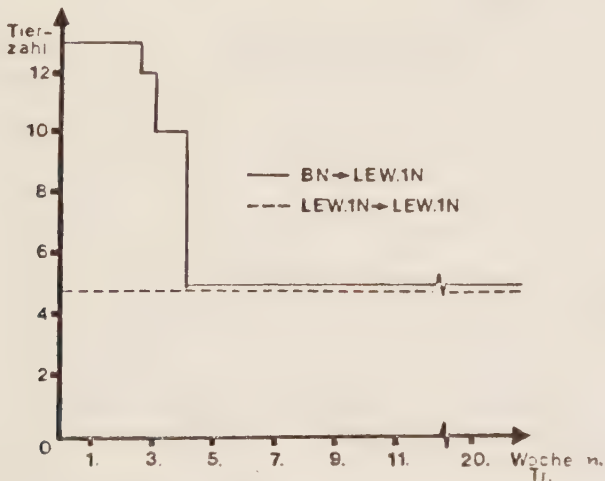


Abb.17: Vergleich der Überlebensrate von BN in LEW.1N mit einer syngen LEW.1N-Kombination

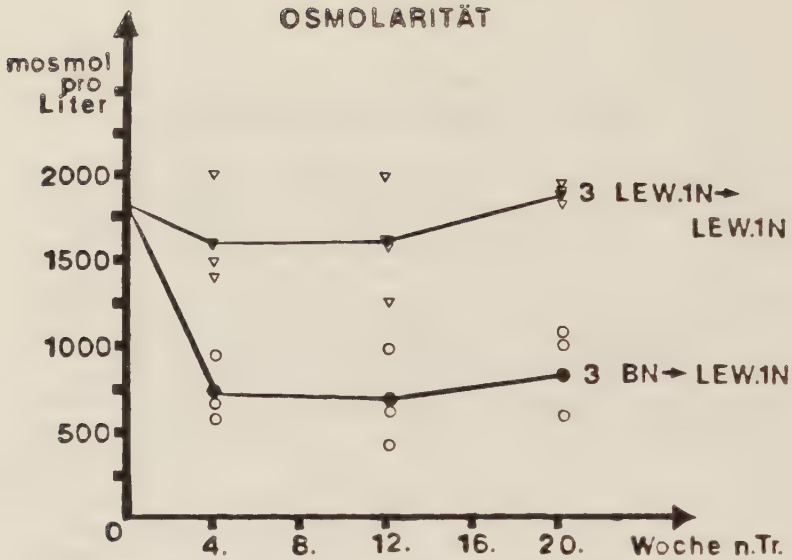


Abb.18: Osmolarität von BN in LEW.1N bei langer Überlebenszeit. Vergleich mit syngener Kombination

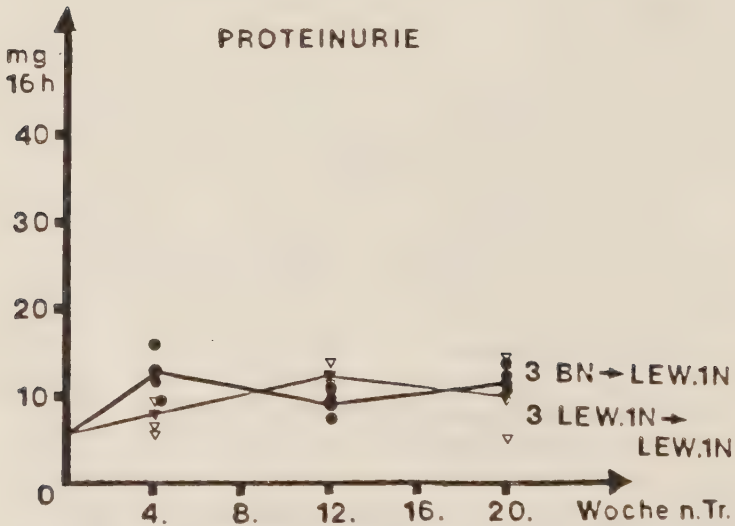


Abb.19: Proteinurie bei BN in LEW.1N bei langer Überlebenszeit. Vergleich mit syngener Kombination

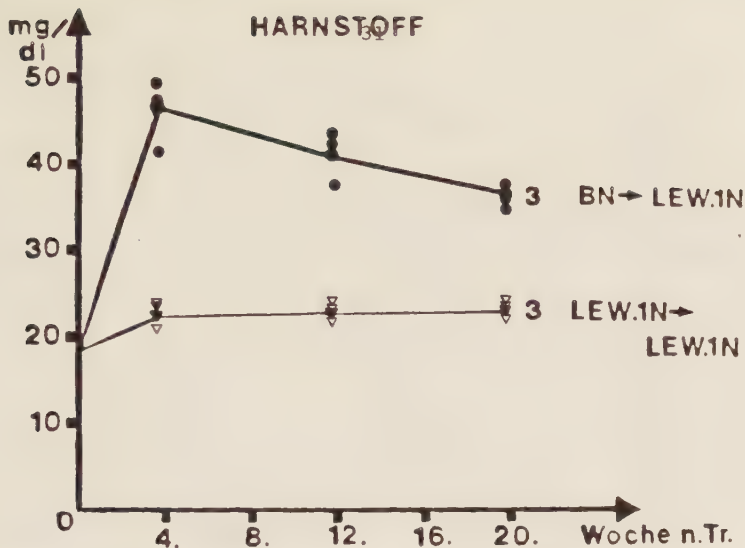


Abb.20: Harnstoff bei BN in LEW.1N bei langer Überlebenszeit. Vergleich mit syngener Kombination

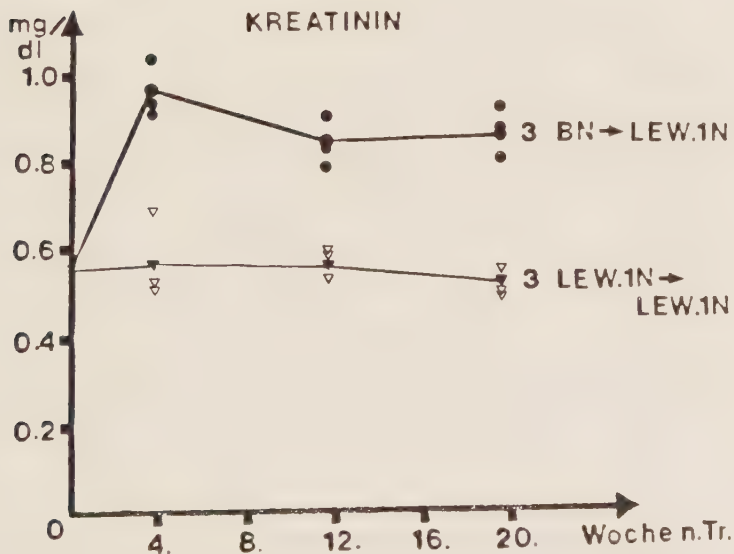


Abb.21: Kreatinin bei BN in LEW.1N bei langer Überlebenszeit. Vergleich mit syngener Kombination

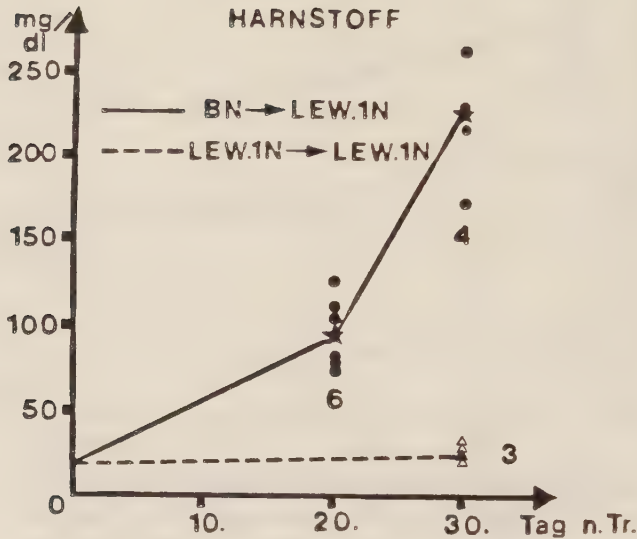


Abb.22: Harnstoff bei BN in LEW.1N bei kurzer Überlebenszeit. Vergleich mit syngener Kombination

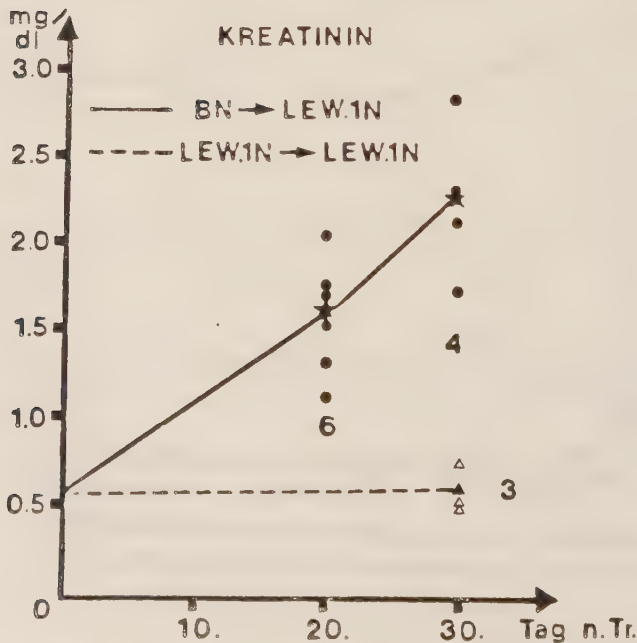


Abb.23: Kreatinin bei BN in LEW.1N bei kurzer

An drei der überlebenden Tiere werden Funktionsuntersuchungen auf Urinosmolalität, Proteinurie, Harnstoff und Kreatinin durchgeführt. Sie sind mit einer Kontrollgruppe von syngen transplantierten Tieren verglichen (Abb. 18-21). Auffallend sind vorallem die niedrige Urinosmolalität und die gegen die Kontrollgruppe erhöhten Retentionswerte. Die Proteinausscheidung im Urin ist nur unwesentlich erhöht. Die Abbildungen 22 und 23 zeigen das Verhalten der Retentionswerte von Tieren der Gruppe A, die innerhalb der ersten vier Wochen nach Transplantation versterben. Harnstoff und Kreatinin spiegeln die schlechte klinische Situation der Tiere wider.

Makroskopischer Befund: Alle in Gruppe A und B transplantierten Nieren sind bei der Entnahme größer als normal. An der Schnittfläche zeigen sich mehrere weißliche, runde, verhärtete Bezirke.

Immunhistologischer Befund: Direkte Immunhistologie: Um den zehnten Tag nach Transplantation sieht man lineare Ablagerungen von IgG an der TBM der Rinde (Abb.24). Dieser Befund scheint im Verlauf der nächsten 20 Tage noch deutlicher zu werden. Gegen Ende des Beobachtungszeitraumes (6 Monate) wird die Fluoreszenz dann im Vergleich zu Tag 20 bis 30 wieder schwächer. Das Nierenmark ist von den Ablagerungen nicht betroffen, die Grenze zur Rinde ist scharf. Vor allem bei den um den 30. Tag untersuchten Nieren lassen sich Areale erkennen in denen der Durchmesser der Tubuli verkleinert ist oder die Tubuli völlig fehlen. Es sind jedoch nur relativ wenige Basalmenbranbruchstücke oder Kontinuitätsunterbrechungen der Basalmembranen zu erkennen. Auch in späteren Stadien sind deutlich Areale zu erkennen in denen die Tubuli verschwunden sind.

Die Gefäße, vor allem Arterien, weisen über den gesamten Beobachtungszeitraum feingranuläre Ablagerungen von IgG auf. Die Glomeruli sind über den gesamten Beobachtungszeitraum

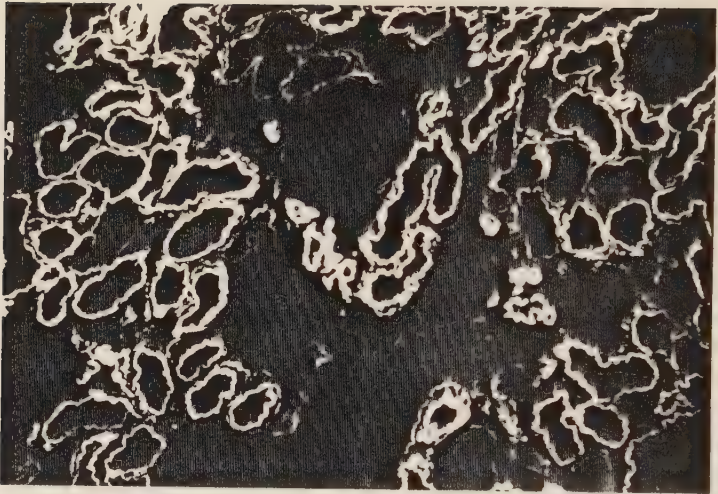


Abb.24: Immunhistologie bei BN in Lew.1N am 30. Tag

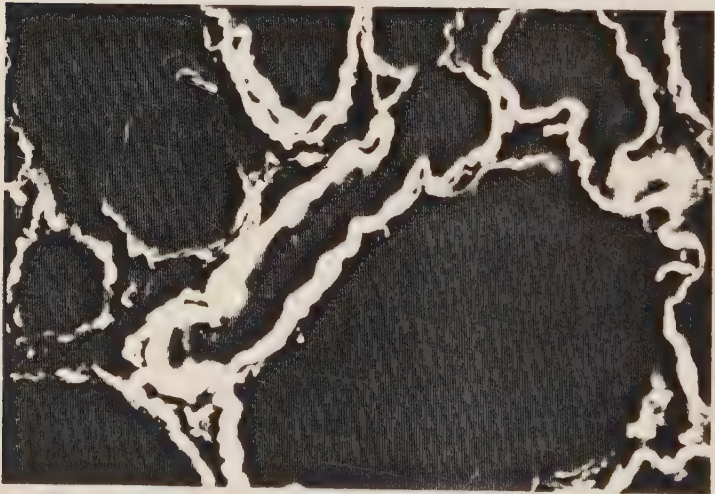


Abb.25: Detail der Immunfluoreszenz von Abb.24

negativ (Abb.25).

Etwa 10 Tage nach Transplantation wird IgM perivaskulär nachweisbar. Dadurch ergibt sich ein anfangs deutlich fokales Muster in der Immunfluoreszenz. Bis zu 20 Tagen werden die TBM der gesamten Rinde deutlich IgM positiv und die Stärke der Fluoreszenz erreicht den Höhepunkt. Zu einem späteren Zeitpunkt (3-6 Monate) ist die Fluoreszenz deutlich schwächer geworden. An den Gefäßen findet man IgM sowohl in der Muskularis als auch in der Intima, etwa bis zum 30. Tag. Die Glomeruli sind in feingranulär IgM-positiv.

Histologie: Zu einem frühen Zeitpunkt nach Transplantation (10-15 Tage) ist das Übersichtsbild von einer starken zellulären Infiltration der gesamten Rinde geprägt. Eine herdförmige Betonung ist kaum zu erkennen, auch wenn manchmal die Infiltrate um Gefäße dichter zu sein scheinen. Das Infiltrat ist vorwiegend ein mononukleäres, wobei man gelegentlich wenige polymorphkernige Granulozyten erkennen kann. Bei genauer Durchmusterung der Präparate sind bei manchen Tieren einige wenige Riesenzellen und gelegentlich epithelioidzellige Formationen zu erkennen. Gelegentlich sieht man atrophische Tubuli (Abb.26,27).

Auffallend sind weiterhin entzündliche Infiltrate um kleinere und größere Arterien. Die Glomeruli weisen eine Verquellung des Mesangium und zum Teil Schlingenverlegungen auf. Nach 20 Tagen kommen bei allen untersuchten Nieren zu obigem Befund noch ausgeprägte Arterienwandveränderungen hinzu. Es zeigt sich eine Peri- bzw. Pan-arteriitis mit Wandnekrosen und gelegentlich auch Riesenzellbildungen in der Media. Besonders ausgeprägt sind diese arteriellen Veränderungen bei den nur kurz überlebenden Tieren, so daß der schlechte Zustand darauf zurückgeführt werden muß (Abb.28,29).

Das Infiltrat, das man in den Spätstadien findet, besteht vorwiegend aus Plasmazellen und Lymphozyten. Man erkennt atrophische Tubulusbezirke und eine abgelaufene Arteriitis.

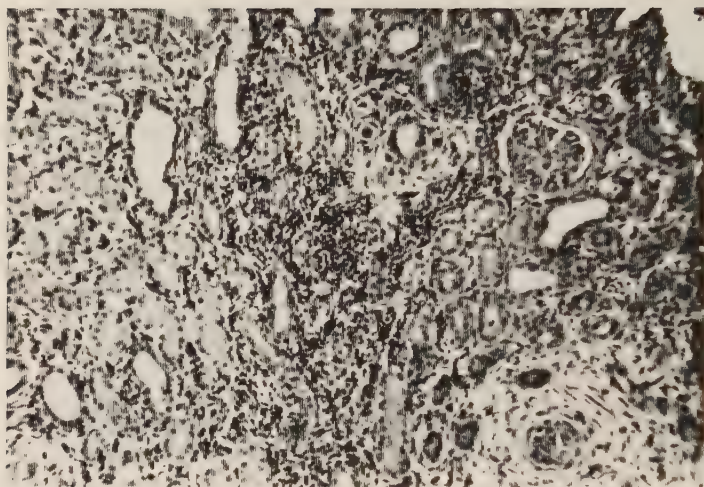


Abb.26: BN in LEW.1N am 30. Tag

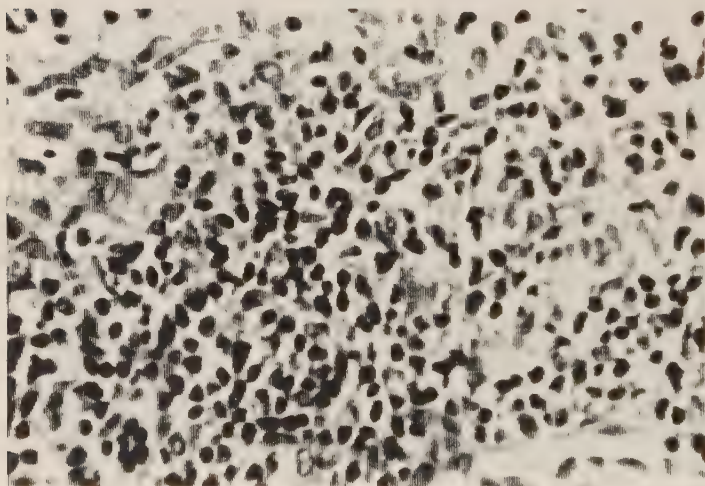


Abb.27: BN in LEW.1N: Detail des Infiltrates am 30. Tag

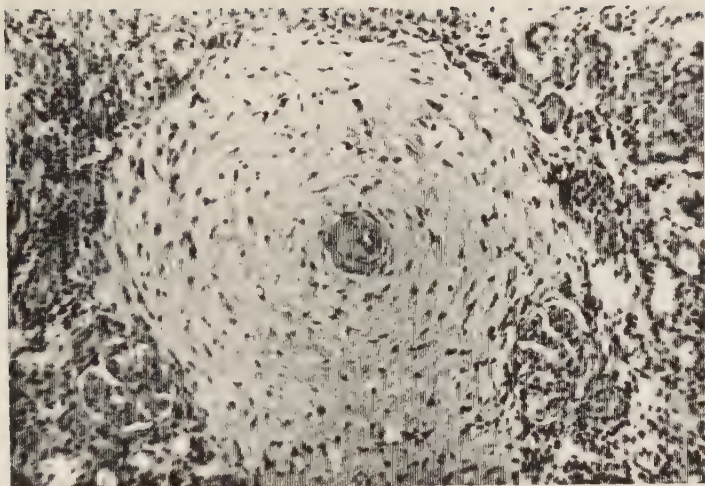


Abb.28: Arteriitis bei BN in LEW.1N am 15. Tag

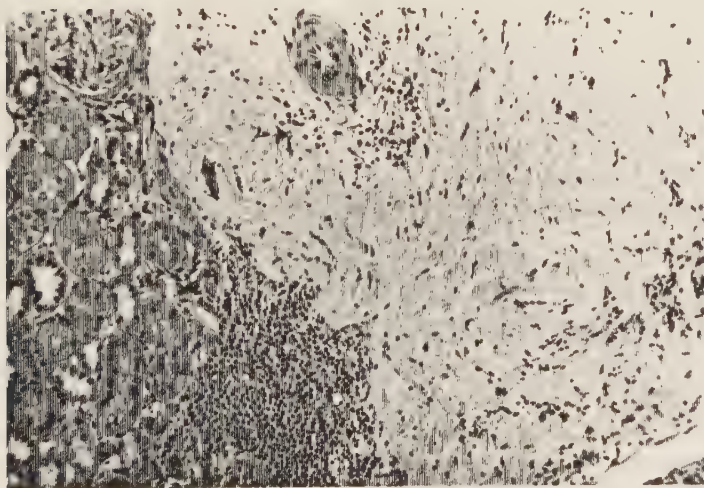


Abb.29: Arteriitis BN in LEW.1N am 30. Tag

Der überwiegende Teil der Tubuli ist allerdings gut erhalten, Riesenzellen oder Epitheloidzellen, die auf eine TIN hinweisen, sind nicht vorhanden.

Das Interstitium ist geringgradig faservermehrt. Die Glomeruli scheinen im allgemeinen eine Matrixvermehrung aufzuweisen. Zur Nierenoberfläche hin sieht man auch atrophische Nierenkörperchen. Insgesamt ist der zelluläre und der morphologische Befund in späten Stadien nicht mehr sehr ausgeprägt. Er entspricht einer chronischen Abstoßungsreaktion (Abb.30,31). Die diese Transplantationsgruppe kennzeichnenden Veränderungen treten von Tag 20 bis Tag 30 auf.

3.3.3. Transplantation nach Enhancement

Um eine Verlängerung der Überlebenszeit zu erreichen, werden neun LEW.1N-Tiere im Abstand von drei Wochen mit je einem ml Blutzellkonzentrat von BN-Ratten vorbehandelt. Nach weiteren drei Wochen wird nach bilateraler Nephrektomie den LEW.1N-Ratten eine BN-Niere implantiert. Zwei der neun Tiere erhalten zur Kontrolle eine syngene Niere. Die Tötung der Tiere erfolgt nach 8, 12 und 24 Wochen zur immunhistologischen und histologischen Untersuchung der Nieren. Daneben werden bei einigen Tieren die Funktionsparameter zum Vergleich mit den Untersuchungen in 3.3.2. bestimmt.

Ergebnisse:

Von den sieben mit einer BN-Niere transplantierten Niere werden vier nach 8, 12 und 13 Wochen präfinal getötet. Die drei anderen Tiere überleben in einem klinisch guten Zustand bis zum Ende der Beobachtungszeitraumes nach 24 Wochen. Die Überlebenszeit ist somit im Vergleich zur Vorgruppe deutlich besser.



Abb.30: BN in LEW.1N nach 20 Wochen

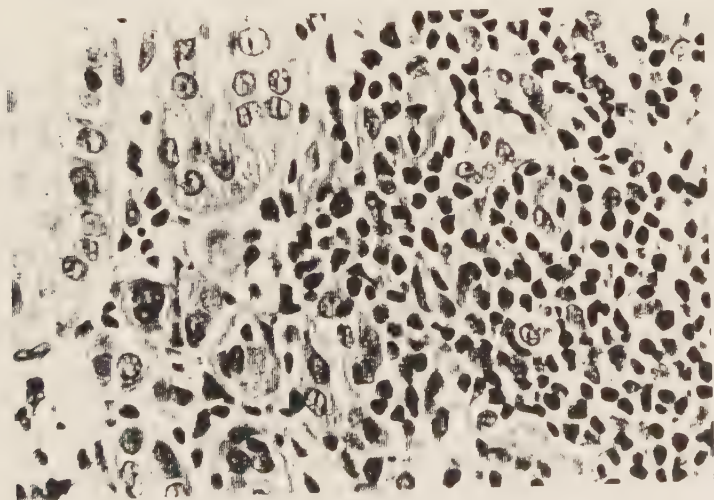


Abb.31: BN in LEW.1N nach 20 Wochen: Detail des Infiltrates

Funktionsparameter: Gegenüber den lange überlebenden Tieren bei 3.3.2. zeigen sich hier langfristig eindeutig schlechtere Nierenfunktionsparameter (Abb.32-35). Es ist jedoch zu beachten, daß der klinische Zustand, bzw. die Überlebensrate bei der Enhancement-Gruppe sehr viel besser ist, auch wenn die Nierenfunktion eingeschränkt ist. Besonders auffallend im Vergleich zur Vorgruppe ist die hohe Proteinausscheidung am Ende des Beobachtungszeitraumes. Die Kontrolltiere zeigen keine veränderte Nierenfunktion.

Makroskopischer Befund: Alle entnommenen Nieren sehen vergrößert aus, aber die Oberfläche ist normal.

Immunhistologischer Befund: Die Tubulusbasalmembranen der Rinde sind zu allen Zeitpunkten mit Antiratten-IgG linear positiv, die Glomeruli sind negativ. Der Gefäßbefund ist ebenfalls negativ. Die Färbung mit Anti-IgM ist positiv wie in Gruppe 3.3.2.

Mit der indirekten Immunfluoreszenz läßt sich zeigen, daß der Beginn der Antikörperbildung um den zehnten Tag liegt, so daß keine Abweichung zur nicht vorbehandelten Gruppe besteht.

Histologie: Bei den präfinal getöteten Tieren (nach 8 bzw 12 Wochen) dominieren im histologischen Bild arterielle Gefäßveränderungen in Form von Wandnekrosen und periarteriellen Veränderungen, wie sie aus der Gruppe der unbehandelten LEW.1N-Empfänger bekannt sind, ohne jedoch deren Stärke zu erreichen. Bei den überlebenden Tieren, die nach 24 Wochen getötet werden, zeigen sich derartige Veränderungen nicht. Im Rindeninterstitium findet man eine diffuse Zellvermehrung vorallem von rundzelligen Elementen. In den späten Stadien tritt eine diffuse Faservermehrung an die Stelle der Infiltrate. Ausgeprägte Tubulusdestruktionen, epitheliodzellige Formationen oder Riesenzellen sind weder in frühen noch in späteren Stadien dieser chronischen Abstoßungsreaktion nach Spenderblut-Vorbehandlung anzutreffen (Abb.36,37).

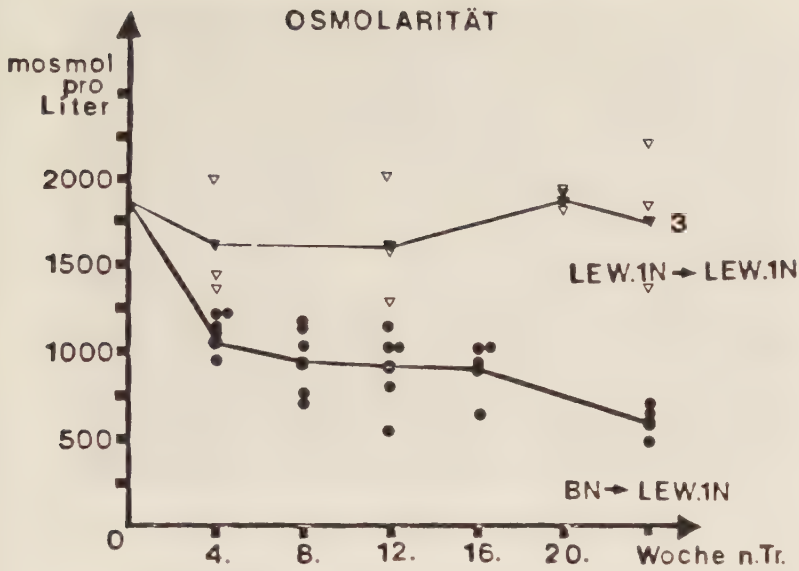


Abb.32: Osmolarität bei Enhancement. Vergleich
mit syngener Kombination

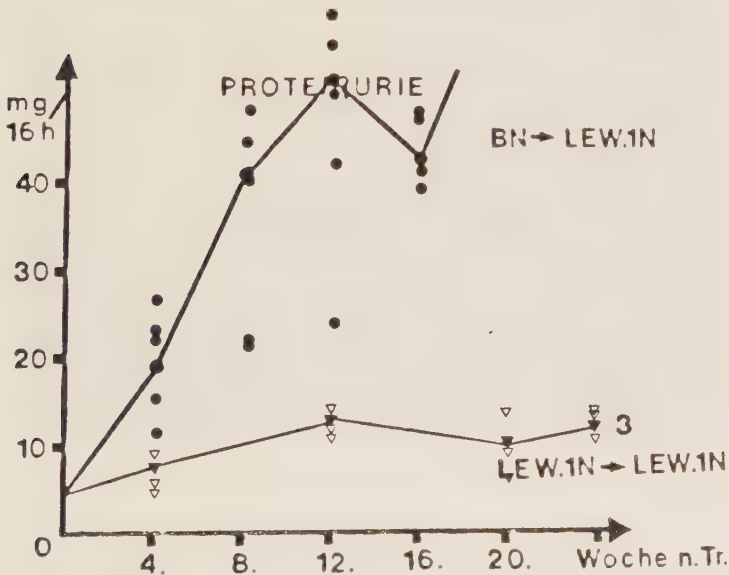


Abb.33: Proteinurie bei Enhancement. Vergleich mit
syngener Kombination

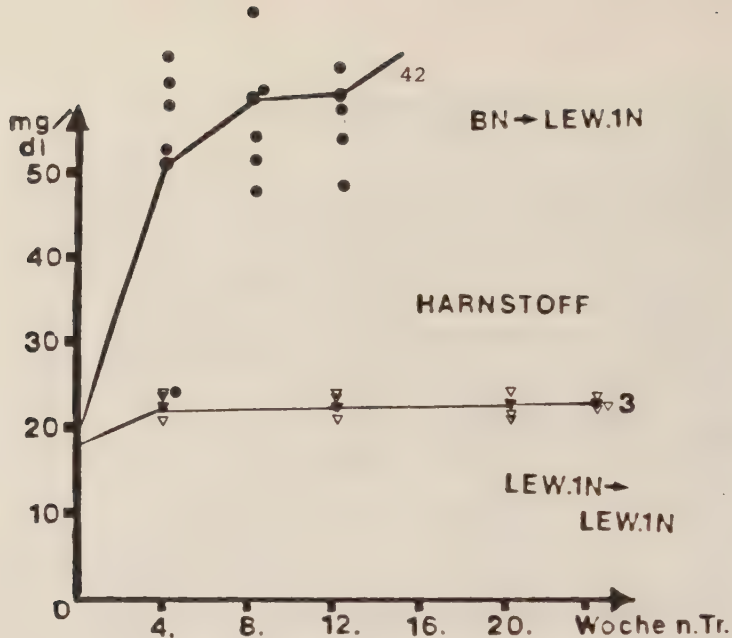


Abb.34: Harnstoff bei Enhancement. Vergleich mit syngener Kombination

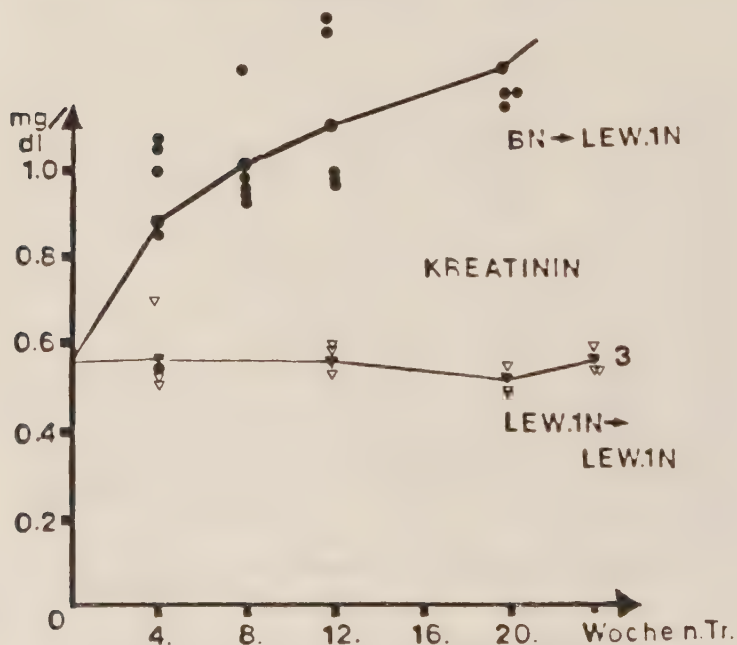


Abb.35: Kreatinin bei Enhancement. Vergleich mit syngener Kombination

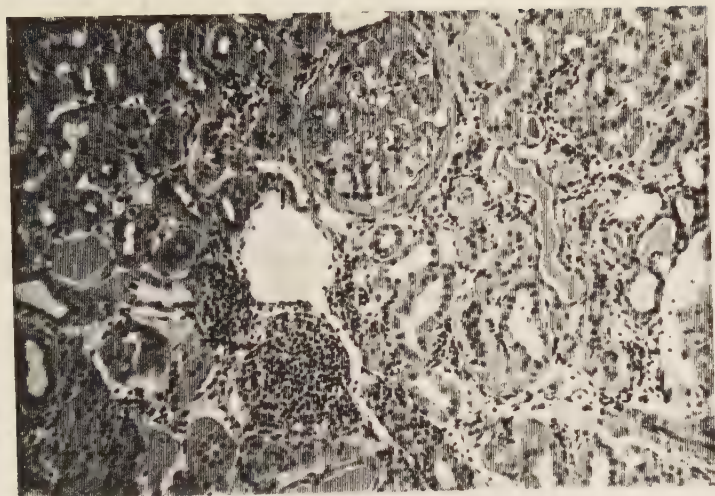


Abb.36: BN in LEW.1N bei Enhancement nach 30 Tagen

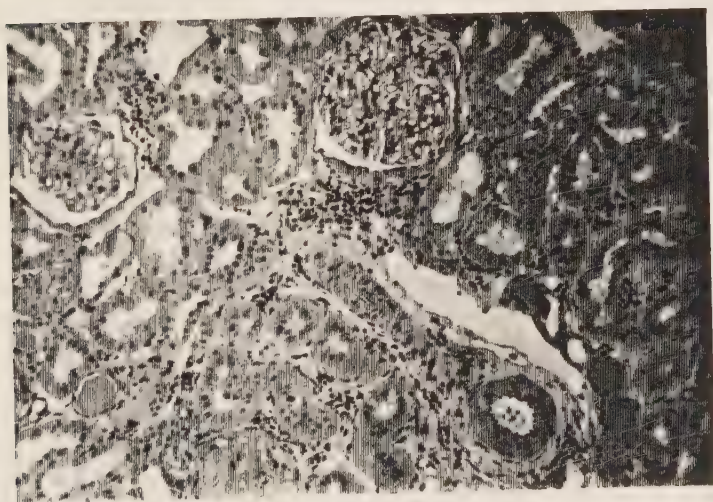


Abb.37: BN in LEW.1N bei Enhancement nach 30 Tagen (Detail)

Hervorzuheben sind jedoch ausgeprägte glomeruläre Veränderungen, die weder in früheren noch in späteren Experimenten dieser Arbeit beobachtet wurden. Bereits in frühen Stadien zeigt sich eine deutliche Beteiligung der Glomeruli in Form einer erheblichen Verbreiterung des Mesangiums, einer Matrixvermehrung, Schlingenobliterationen und Fibrinausfällungen. Dieser glomerulären Situation dürfte ein Teil der Tubulusatrophien anzulasten sein.

3.3.4. Transplantation nach Toleranzinduktion

Um eine Abstoßungsreaktion auf geeignetere Weise als mit dem Enhancement-Versuch zu verhindern, wird bei LEW.1N-Tieren Toleranz für die BN-Histoinkompatibilitätsantigene erzeugt. Dazu werden Lymphknoten-, Knochenmark- und Milzzellen von F1-Hybriden (BNxLEW.1N) in LEW.1N-Babies injiziert. Nach sechs Wochen erfolgt zur Toleranzkontrolle die Hauttransplantation von BN auf die potentiell toleranten LEW.1N-Tiere. Nach weiteren 16-20 Wochen wird in die Tiere, die ein voll behaartes Hauttransplantat besitzen, eine BN-Niere implantiert. Die Transplantate werden nach drei (1x), vier (1x), acht (1x) und 20 Wochen (3x) entnommen und untersucht. Serum- und Urinparameter werden an drei Tieren über 20 Wochen untersucht.

Ergebnisse:

In die Auswertung des Versuches werden sieben Tiere aufgenommen, wobei ein Tier aus technischen Mängeln bei der Transplantation ausgeschlossen wird. Alle transplantierten Tiere überleben bis zum Tötungszeitpunkt in einem gutem klinischen Zustand.

Urin- und Serumparameter: Gegenüber einem Normalkollektiv von syngen transplantierten Ratten zeigt sich folgendes: Die

OSMOLARITÄT

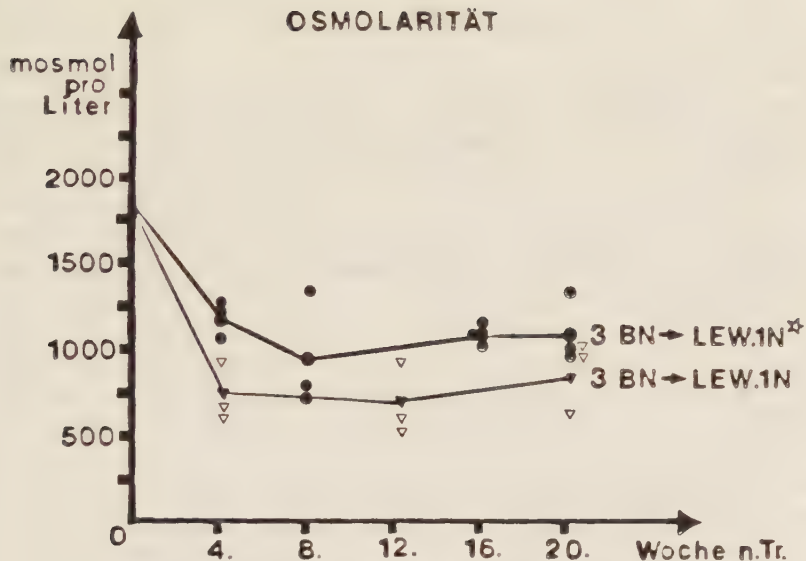


Abb.38: Osmolarität bei Toleranz[☆] Vergleich mit BN in LEW.1N bei langer Überlebenszeit

PROTEINURIE

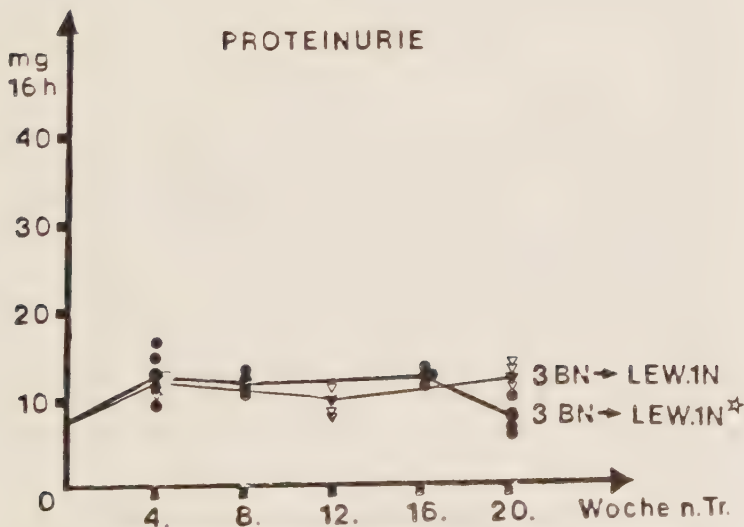


Abb.39: Proteinurie bei Toleranz[☆] Vergleich mit BN in LEW.1N bei langer Überlebenszeit

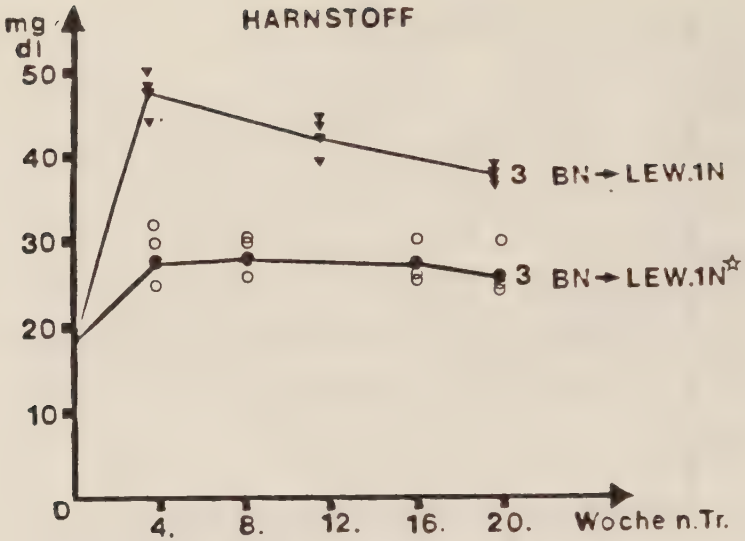


Abb.40: Harnstoff bei Toleranz[☆] Vergleich mit
BN in LEW.1N bei langer Überlebenszeit

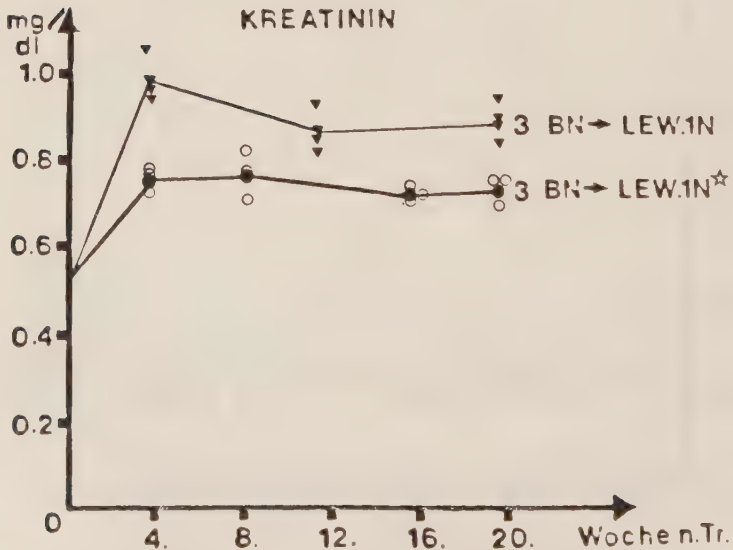


Abb.41: Kreatinin bei Toleranz[☆] Vergleich mit
BN in LEW.1N bei langer Überlebenszeit

Urinosmolalität ist leicht erniedrigt, die Proteinausscheidung ist geringgradig erhöht (Abbildung 38,39). Ebenso sind die Retentionswerte leicht erhöht, wobei die Harnstoffwerte die proportional geringere Erhöhung zeigen (Abb.40,41).

Makroskopischer Befund: Makroskopisch sind alle Nieren unauffällig. Bei den für 20 Wochen belassenen Nieren stellt man die schon bekannte, vermutlich kompensatorische, Hypertrophie fest.

Immunhistologischer Befund: Eindeutig positive immunhistologische Befunde sind weder mit Anti-IgG noch -IgM zu erheben. Bei den nach 20 Wochen getöteten Tieren scheinen sich geringgradig positive Tubuli in der Rinde abzuheben. Der Befund ist jedoch äußerst gering. Die ebenfalls bei allen Tieren durchgeführten Untersuchungen auf Ak gegen TBM im Serum sind negativ.

Histologischer Befund: An den histologischen Präparaten sind einige rundzellige Infiltrate zu erkennen. Gelegentlich sieht man Tubulusatrophien in Nephrongröße. Diese Befunde sind vor allem bei den früh entnommenen Nieren zu erkennen, während die späten Stadien praktisch unverändert sind (Abb. 42,43).

3.3.5. Transplantation nach Toleranzinduktion und Immunisierung mit STBM

Zur Überprüfung der Frage, ob LEW.1N in der Lage ist an einer Ag-positiven BN-Niere eine TIN auszulösen, wird eine BN-Niere in einen toleranten LEW.1N-Empfänger implantiert und nach vier Tagen mit 10 mg STBM immunisiert. 10-13 Tage nach der Immunisierung werden alle Tiere getötet und die Nieren immunhistologisch und histologisch untersucht. Funktionsuntersuchungen werden nicht durchgeführt, da das Schwergewicht hier auf den morphologischen Befunden liegt.

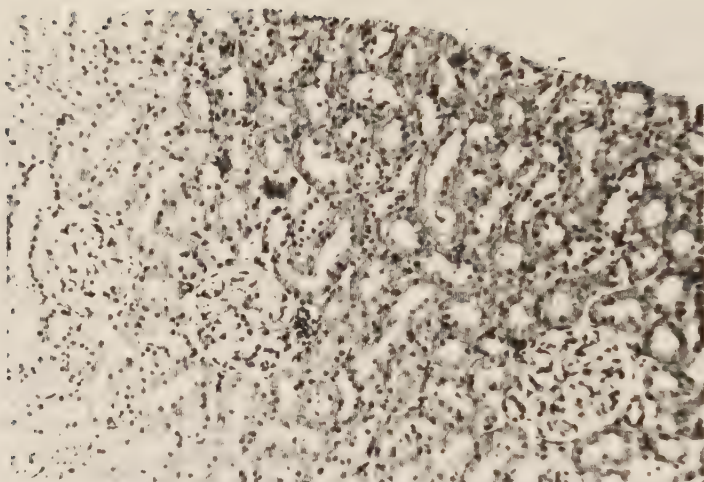


Abb.42: BN in LEW.1N bei Toleranz nach 30 Tagen

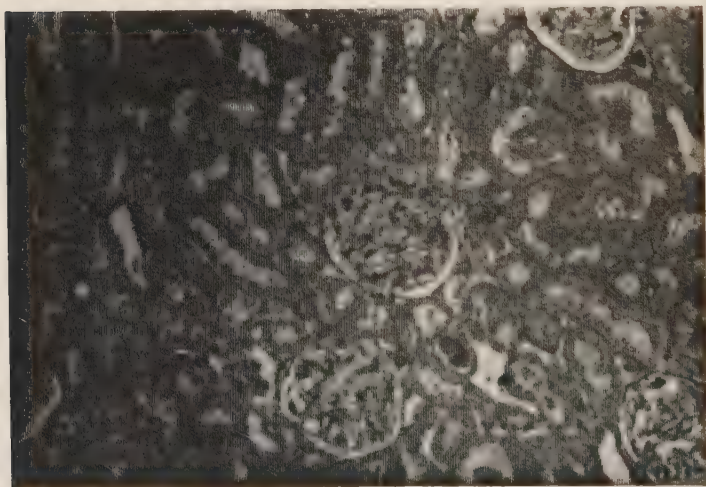


Abb.43: BN in LEW.1N bei Toleranz nach 8 Wochen

Ergebnisse:

Makroskopischer Befund: Bereits makroskopisch zeigen alle vier Nieren praktisch gleichartige Veränderungen: Die Nieren sind geschwollen und vergrößert. Auf der blassen Nierenoberfläche sind herdförmig weißliche, unregelmäßig verteilte Flecke zu erkennen.

Immunhistologischer Befund: Man findet in der Nierenrinde an allen Tubuli lineare Ablagerungen von IgG. Die Glomeruli und Gefäße bleiben ausgespart. Es besteht eine scharfe Grenze zum Nierenmark. Zum Teil stellen sich die Tubuli dichter zusammengedrängt dar, zum Teil erkennt man Areale, in denen keine Tubuli mehr vorhanden sind. Mit der indirekten Immunfluoreszenz läßt sich der Beginn der Antikörperbildung auf den sechsten bis achten Tag bestimmen.

Histologischer Befund: In fokaler bis diffuser Verteilung zeigen sich in der gesamten Rinde massive Veränderungen mit mononukleären Zellen und polymorphkernigen Granulozyten. In allen vier Fällen sind reichlich mehrkernige Riesenzellen vom Langerhans'schen Typ zu sehen. Das Cytoplasma der Tubuluszellen ist vakuolisiert, die Kerne sind pyknotisch verändert. Viele Tubuli sind völlig zerstört. Dabei erscheinen Glomeruli und Nierenmark nicht verändert. Es handelt sich hier um das histologische Bild einer TIN, wie es in 3.1.1. dargestellt wurde.

3.3.6. Transplantation unter Behandlung mit CyA und Immunisierung mit STBM

Um eine chronische Abstoßungsreaktion zu verhindern bzw. zu mitigieren werden 12 LEW.1N-Ratten für 10 Tage nach Transplantation mit 10 mg/kg Körpergewicht pro Tag CyA behandelt. Mittels dieser Dosis läßt sich ein Spiegel von ca. 400-600 ng/dl im Serum erreichen (48). Am Tag des Beginnes der CyA-Behandlung wird eine BN-Niere in den LEW.1N-Empfänger implantiert. Vier Tiere werden am 20 Tag nach Transplantation

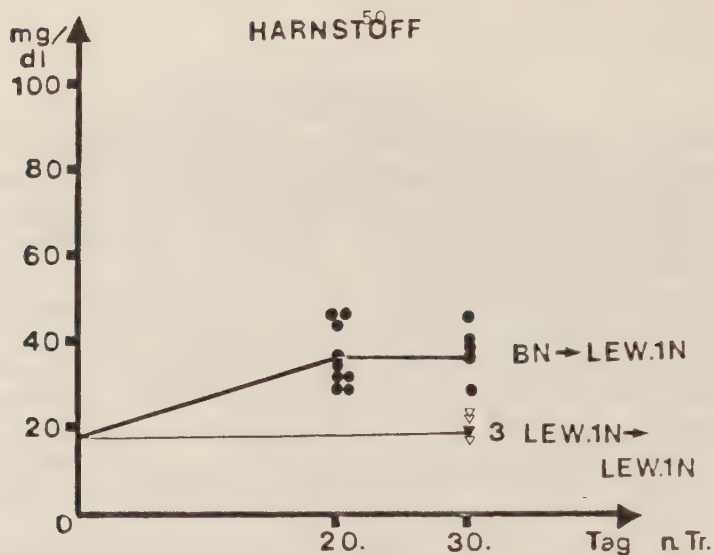


Abb. 44: Harnstoff bei Transplantation unter CyA.
Vergleich mit syngener Kombination

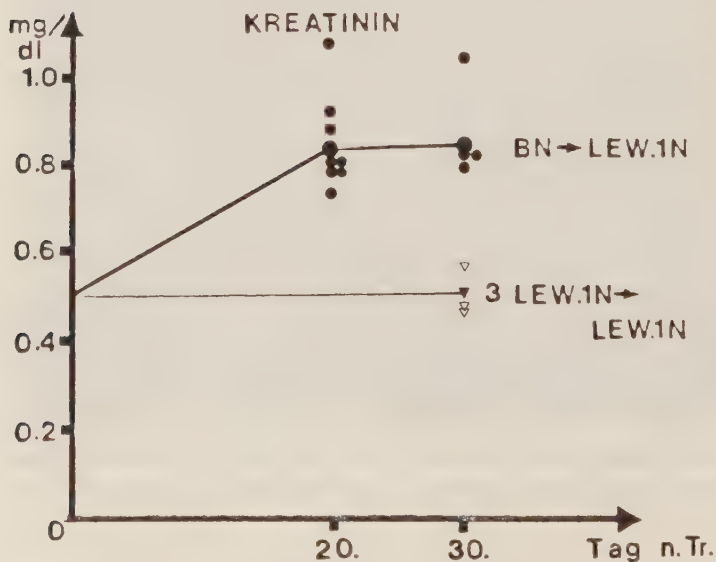


Abb. 45: Kreatinin bei Transplantation unter CyA.
Vergleich mit syngener Kombination

Tabelle 4: Übersicht über die Experimente zur Implantation einer Fl-Hybridniere

T I E R- N U M M E R	T A G E			
	1.-10.Tag	20.Tag	30.Tag	40.Tag
109	Cyclosporin A (10mg/kg)	--	--	getötet:
111				Histo. Fluo.
112	Cyclosporin A (10mg/kg)	getötet:	--	--
113		HST/Krea.		
		Histo.		
		Fluo.	--	--
115	Cyclosporin A (10mg/kg)	HST/Krea.	getötet:	--
		Fluo.	Histo.	
116		10mg STBM	Fluo.	--
		+ CFA	HST/Krea.	
117		+ Pert.		--
118				--
119	Cyclosporin A (10mg/kg)	HST	getötet:	--
		Krea.	Histo.	
120		Fluo.	Fluo.	--
			HST/Krea.	
121				--
122				--

zusätzlich mit 10 mg STBM/Tier behandelt. Einen Überblick über den Versuchsaufbau gibt Tabelle 4. Zur Dokumentation des klinischen Zustandes der Tiere werden sie in etwa viertägigem Abstand gewogen. Bei einigen Tieren werden die Retentionswerte gemessen.

Ergebnisse:

Keines der Tiere stirbt vor Beendigung des Versuches. Der klinische Zustand ist während der ganzen Versuchsdauer gut. Ein Tier (114) wird wegen eines technischen Mangels ausgeschlossen. Der Gewichtsverlauf zeigt, daß die nachimmunisierten Tiere für einen Zeitraum von mehreren Tagen deutlich an Gewicht verlieren. Die übrigen Tiere bleiben im Gewicht konstant, bzw. nehmen an Gewicht zu.

Retentionswerte:

Die Höhe der Harnstoff- und Kreatininwerte bei acht bzw zehn Tieren (Tag 20 und 30) geben Abbildung 44 und 45 wieder. Abgesehen von zwei aus unklaren Gründen erhöhten Werten an Tag 20, liegen sie signifikant niedriger wie in der unbehandelten Normalkombination (Tabelle 5).

Tabelle 5: Statistischer Vergleich der Retentionsparameter von BN in LEW.1N ohne und mit CyA am 20. Tag

	BN in LEW.1N n=7	BN in LEW.1N + CyA n=8
Harnstoff mg/dl	95.3 +/-21.3	37.5 +/-6.0
Kreatinin mg/dl	1.58 +/-0.31	0.72 +/-0.52

Signifikanter Unterschied für $p < 0.001$ mit dem t-Test

Makroskopischer Befund: Die Nieren sind bei Entnahme unauffällig. Auch bei den immunisierten Tieren sind keine äußeren Veränderungen zu erkennen.

Immunhistologischer Befund: Die am 20. Tag entnommenen Nieren sind in der direkten Immunfluoreszenz negativ (112,113). Die am 30. Tag entnommenen Nieren der immunisierten Tiere zeigen eine deutliche lineare Fluoreszenz der TBM. Glomeruli und Gefäße sind nicht betroffen. Tier 118 zeigt eine etwas schwächere Anfärbung mit IgG. Die gleichfalls am 30. Tag untersuchten nicht immunisierten Tiere (119-122) zeigen zum Teil eine sehr geringe, fokale Fluoreszenz (120,122), zum Teil sind sie negativ (119,121). Von den am 40. Tag mit IgG untersuchten Tieren ist eines (109) ebenfalls negativ. Das Tier 111 zeigt eine geringe positive Fluoreszenz der Tubuli. In der indirekten Immunfluoreszenz sieht man das gleiche Bild. Lediglich Tier 118 zeigt eine sehr viel deutlichere Fluoreszenz als sich nach der direkten Färbung vermuten ließ. Zusammenfassend läßt sich zu den Immunfluoreszenzbefunden sagen, daß die nicht immunisierten Empfänger entweder ganz negativ oder nur sehr schwach positiv sind, während die immunisierten Tiere eine starke lineare IF der gesamten kortikalen TBM zeigen.

Lichtmikroskopischer Befund: Alle Präparate zeigen nahezu das gleiche Bild hinsichtlich Verteilung und Zusammensetzung der morphologischen Veränderungen. Man sieht in der ganzen Rinde interstitielle zelluläre Infiltrate, die stellenweise fokal betont sind, und dann besonders perivenös liegen. Im gleichen Präparat findet man größere und kleinere Herde nebeneinander. Die Zellen sind mononukleär. Man erkennt Lymphozyten, Plasmazellen und Monozyten. Zwischen den Infiltraten sind atrophische Tubuli zu sehen. Granulozyten finden sich bei den Tieren ohne STBM-Behandlung nicht. Die immunisierten Tiere (115-118) weisen einige wenige Granulozyten perivaskulär auf. Bei Präparat 111 ist im gesamten Schnitt eine Riesenzelle zu sehen. In einigen Präparaten erkennt man geringe arterielle Veränderungen wie zuvor beschrieben. Die Glomeruli sind

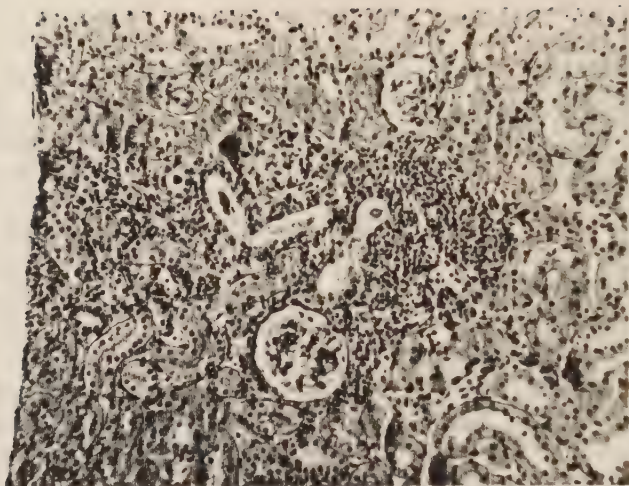


Abb.46: BN in LEW.1N bei CyA-Behandlung nach
30 Tagen

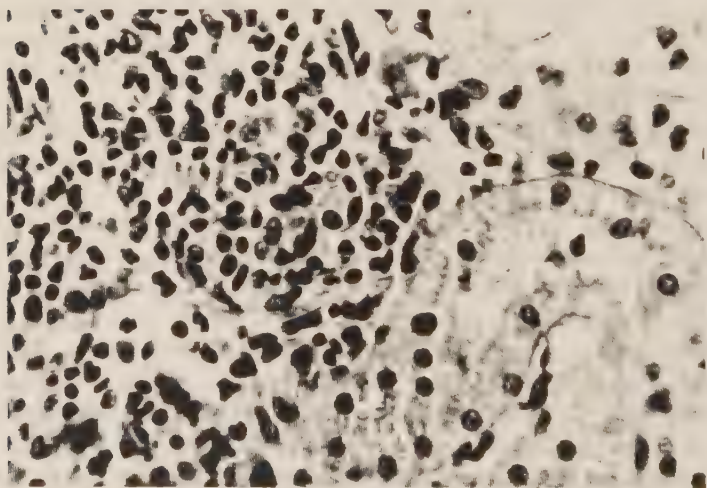


Abb.47: BN in LEW.1N bei CyA-Behandlung nach
30 Tagen (Detail)

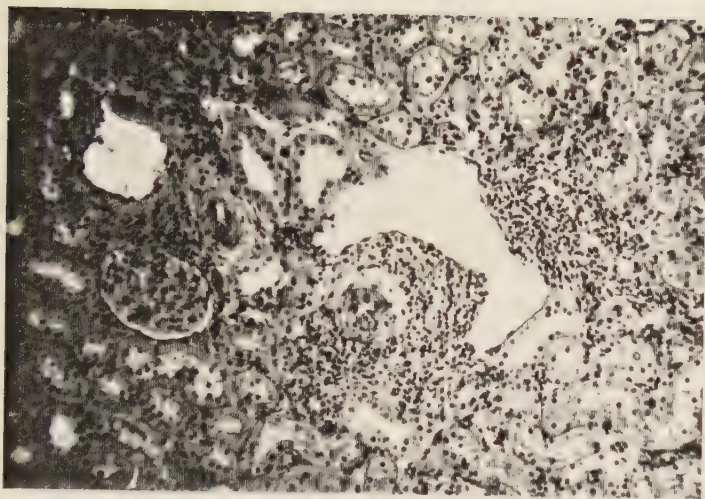


Abb.48: BN in LEW.1N: Perivaskuläre Infiltrate bei CyA-Behandlung nach 30 Tagen

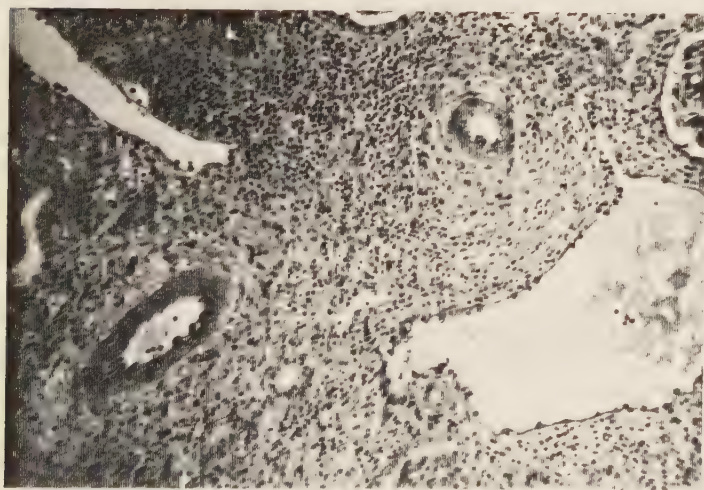


Abb.49: Leichte Arteriitis unter CyA am 30. Tag

unauffällig (Abb.46-49).

Durch einen Vorversuch konnte gezeigt werden, daß BN-Ratten, die für 10 Tage mit CyA behandelt wurden und nach einer Pause von weiteren 10 Tagen mit STBM immunisiert wurden, in vollem Umfange eine TIN entwickeln.

3.3.7. Transplantation einer (BNxLEW.1N)Fl-Niere in LEW.1N und Immunisierung mit STBM

Die (BNxLEW.1N)Fl-Tiere tragen das TBM-Antigen in gleicher Weise wie BN (16). Nach Immunisierung mit STBM entwickeln sie eine TIN wie BN-Ratten. Zur Untersuchung der TIN-artigen Reaktion unter abgeschwächten Abstoßungsbedingungen werden Fl-Nieren in LEW.1N-Tiere implantiert. 10 Tiere werden transplantiert und immunhistologisch und histologisch untersucht (Tabelle 6).

Tabelle 6: Überblick über Versuch 3.3.7.

Tiernr.	Tag 1	Tag 20	Tag 30
104	Transplant.	Histo/Fluo	-----
1117	Transplant.	Histo/Fluo	-----
1112	Transplant.	Kontrolle	Histo/Fluo
1113	Transplant.	Kontrolle	Histo/Fluo
1114	Transplant.	Kontrolle	Histo/Fluo
1115	Transplant.	Kontrolle	Histo/Fluo
1116	Transplant.	immunisiert	Histo/Fluo
105	Transplant.	immunisiert	Histo/Fluo
106	Transplant.	immunisiert	Histo/Fluo
107	Transplant.	immunisiert	Histo/Fluo

Ergebnisse:

Alle Tiere überleben den Beobachtungszeitraum in gutem

klinischen Zustand.

Makroskopischer Befund: Die nach 20 bzw 30 Tagen untersuchten Kontrollnieren sind makroskopisch unauffällig. Dagegen weisen die Nieren der mit STBM immunisierten Tiere deutliche, herdförmige weißliche Veränderungen an der Oberfläche auf, wobei das Tier 1115 nur sehr gering betroffen ist.

Immunhistologischer Befund: Alle Nieren zeigen lineare Anfärbung der Rinden-TBM. mit Anti-IgG. Die Glomeruli und Gefäße sind nicht betroffen. Bei den nachimmunisierten Tieren fällt eine deutlichere Färbung der TBM auf.

Histologischer Befund: Bei den Tieren 1117 und 104 (20 Tage nach Transplantation) sind in allen Rindenabschnitten ausgedehnte rundzellige Infiltrationen zum Teil mit Tubulusatrophien zu sehen. Man trifft auf fokale betonte perivenöse Infiltrate. Die Glomeruli sind kaum betroffen. Die Tiere 1112 und 1113 zeigen deutlichere interstitielle Veränderungen, wobei jetzt auch wenige epitheloidzellige Formationen zu erkennen sind. Bei den nachimmunisierten Tieren findet man zusätzlich eine deutliche granulozytäre Komponente, sowie vor allem oberflächennahe epitheloidzellige peritubuläre Formationen und Riesenzellen. In der gesamten Gruppe lassen sich darüber hinaus noch arterielle Veränderungen erkennen, die tendentiell gleich zu werten sind wie bei der Kombination BN auf LEW.1N, ohne jedoch dieses Ausmaß zu erreichen (Abb.50-53).

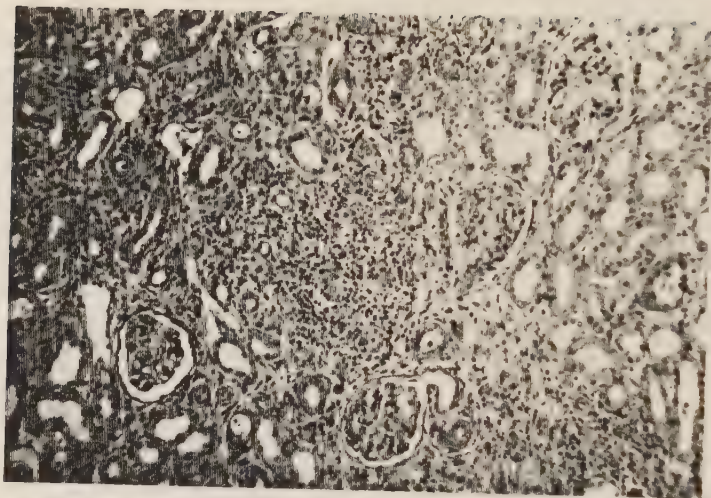


Abb.50: F1-Hybridniere in LEW.1N am 20. Tag

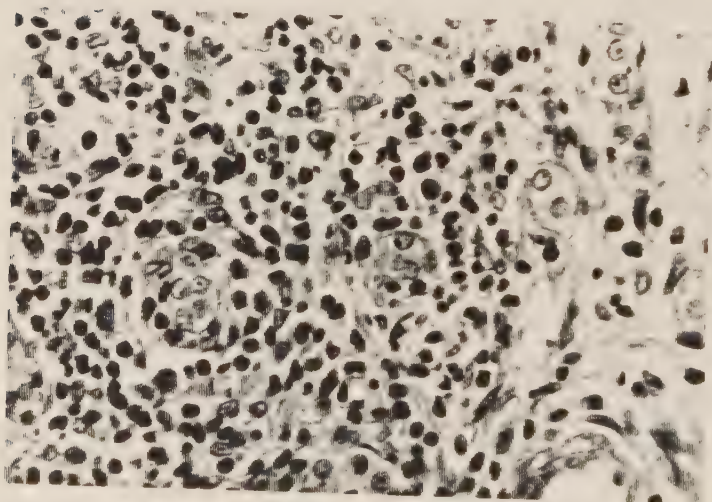


Abb.51: F1-Hybridniere in LEW.1N am 20. Tag (Detail)

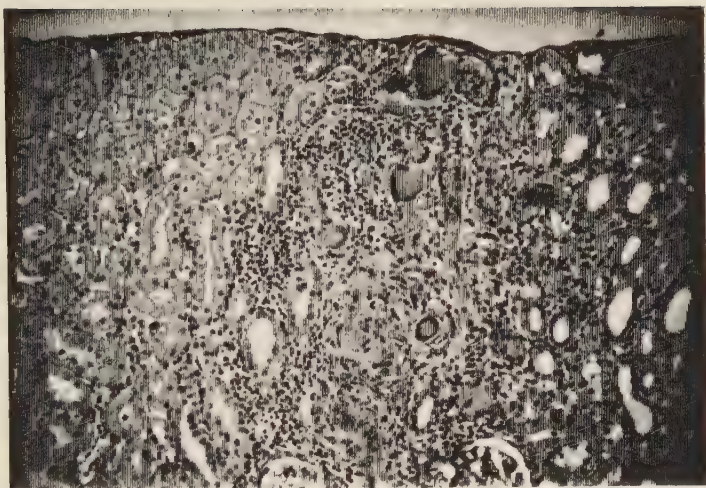


Abb.52: F1-Hybridniere in LEW.1N und Nachimmunisierung

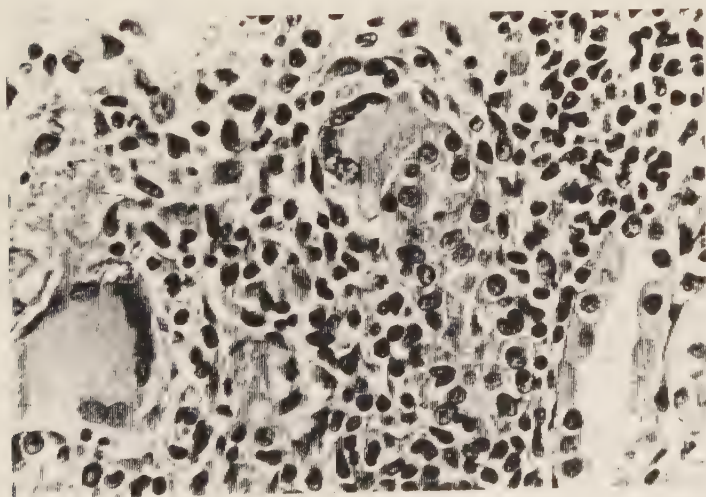


Abb.53: F1-Hybridniere in LEW.1N und Nachimmunisierung
(Riesenzelle)

3.4. Transplantation einer TBM-Ag-positiven Niere in einen TBM-Ag-negativen Empfänger (Zweite Stammkombination: BDV in LEW.1D)

Wie bei der Kombination BN auf LEW.1N handelt es sich hierbei um eine Transplantation einer Ag-positiven Niere in einen Ag-negativen Empfänger (s.Tab.2). Auch hier erfolgt die Transplantation nur über schwache Non-MHC-Grenzen hinweg. Zu diesem Punkt werden nur wenige Transplantationen (vier Tiere) ausgeführt. Die Ergebnisse sind deshalb nur kurz dargestellt.

Ergebnisse:

Keines der Tiere, die bis zu drei Monaten beobachtet werden, zeigt vom Allgemeinzustand her Auffälligkeiten.

Die Funktionsuntersuchungen ergeben einen geringen Abfall der Urinosmolalität und einen Anstieg der Proteinausscheidung nach zwei Monaten, die jedoch auch bei nichttransplantierten Normaltieren zu beobachten ist. Harnstoff und Kreatinin bleiben im Beobachtungszeitraum im Normbereich.

Die entnommenen Nieren zeigen makroskopisch keine Auffälligkeiten. Immunhistologisch findet man mit Anti-Ratten-IgG lineare Ablagerungen von IgG entlang der TBM. Betroffen sind auch hier nur die Tubuli der Rinde. Der immunhistologische Befund entspricht völlig dem der BN-Nieren in LEW.1N.

Der histologische Befund zeigt vereinzelt Tubulusatrophien, sowie kleinere und größere Rundzellinfiltrate perivaskulär und um Harnkanälchen. Riesenzellen, Epitheloidzellen oder Granulozyten sind in keiner Phase nach der Transplantation zu finden. Weder Glomeruli noch Gefäße sind verändert (Abb.54,55).

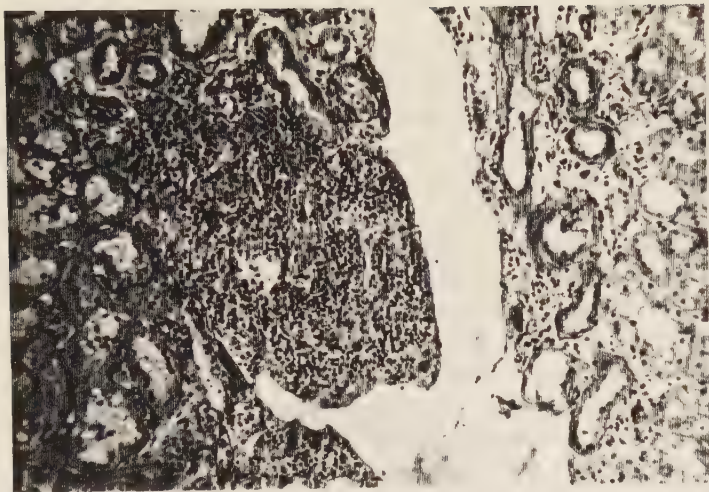


Abb.54: BDV in LEW.1D nach 8 Wochen

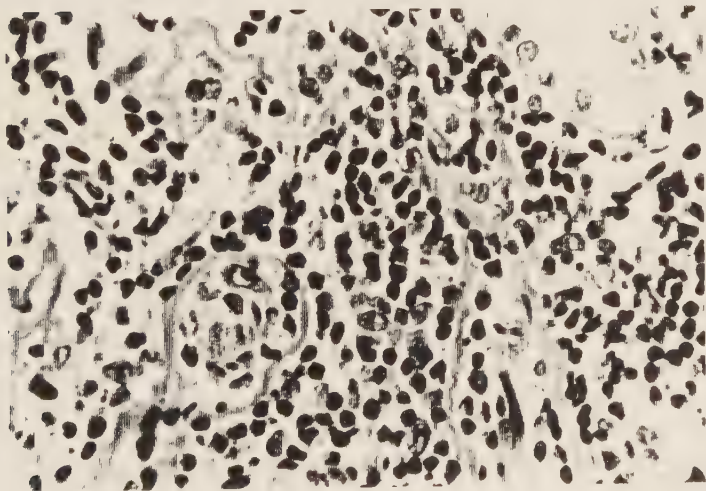


Abb.55: BDV in LEW.1D nach 8 Wochen (Detail)

4. Diskussion

Antikörper gegen die TBM werden auch bei Nierenerkrankungen des Menschen immer wieder erwähnt (25). Man findet sie im Serum oder an Biopsien von Patienten mit Goodpasture-Syndrom und Methicillin-assoziiierter Nephritis (3). Selten findet man TBM-Ak in linearer Ablagerung auch nach Nierentransplantationen beim Menschen (15,24,36,51). Diese positiven, wenn auch ziemlich seltenen Befunde führen zu der Frage, welche Rolle tubuläres Antigen bei der interstitiellen Erkrankung der Niere spielen könnte. Im Tierexperiment sind solche Befunde an der TBM wesentlich häufiger. Man beobachtet TBM-Antikörper nach der allogenen Nierentransplantation bei Ratten (27,41,44,50), beim Hund (49) und nach der Autoimmunisierung mancher Rattenstämme mit homologer oder heterologer TBM. Im Falle der Autoimmunisierung ist damit eine ausgeprägte und charakteristische tubulointerstitielle Nephritis verbunden. Das Auftreten des TBM-Ak nach Transplantation legt die Möglichkeit nahe, daß sowohl bei der Ratte als auch beim Menschen solche zusätzlichen organspezifischen Reaktionen am Funktionsverlust der Transplantate beteiligt sein könnten. Der sich u.a. auch interstitiell abspielende Abstoßungsprozeß ist aber nicht eindeutig von einer TBM-Reaktion abzugrenzen.

Beim TBM-Ag der Ratte handelt es sich um ein organspezifisches Alloantigen, das außerhalb des MHC codiert wird (11,17,38). Es wird unter anderem in den Stämmen BN, BDV und ACI gefunden, während Lewis, kongen-resistente Stämme zu Lewis, AS, MAXX und Wistar-Furth es nicht besitzen. Bei den ersteren Stämmen kommt es nach Autoimmunisierung zur TIN (16), bei letzteren bleibt die Erkrankung aus. Einzelne gegenteilige Beobachtungen sind umstritten (2,42).

Nur wenn bei der Ratte eine TBM-Ag-positive Niere in einen TBM-Ag-negativen Empfänger transplantiert wird kommt es zur Bildung und Ablagerung von Ak an den TBM der implantierten

Niere. Schon 1974 versuchten LEHMANN und and. (20) eine Antwort auf die Frage zu geben, welche Rolle das TBM-Ag bei der allogenen Transplantation spielen könnte. Bei dem damals zur Verfügung stehenden Rattenmodell mußte über die MHC-Barriere transplantiert werden. Eine relativ akute Abstoßung resultierte und eine längerfristige Beobachtung war nicht möglich. Eine definitive Schlußfolgerung konnte daher nicht gezogen werden. In Parallele zu den Beobachtungen an Ratten fanden WILSON und and. (51) und PAUL und and. (36), daß auch bei Nierentransplantaten des Menschen zirkulierende TBM-Ak auftreten, wenn auch nur in einem kleinen Prozentsatz der Fälle. Die Bedeutung dieser Ak beim Menschen wird in Frage gestellt und auch die Mitwirkung dieses Mechanismus bei der Abstoßung bleibt offen. Bei der Ratte ist die Voraussetzung zur Entstehung der TBM-Ak unter allogener Transplantation, daß der Empfänger für das TBM-Ag-negativ ist und der Spender TBM-Ag-positiv (44). Für den Menschen gibt es für diese Konstellation eine Parallele bezogen auf den Glomerulus und die dortige Basalmembran: Patienten mit hereditärer Glomerulopathie besitzen ein Teilantigen der glomerulären Basalmembran nicht (26), und bilden nach Nierentransplantationen GBM-Ak (50), wobei offensichtlich die meisten Individuen und Nierenspender positive Träger dieses Antigen sind.

In der vorliegenden Arbeit wurde durch die Verwendung von MHC-identischen Stämmen die MHC-Barriere vermieden (11). Dies gilt sowohl für die Kombination AS in Lewis als auch für BN in LEW.1N. Bei der Kombination AS/Lewis fehlt in beiden Stämmen das organspezifische Antigen, so daß hier keine organspezifische TBM-Reaktion zu erwarten ist. Wir postulierten, daß bei dieser Kombination nur Abstoßungsreaktionen vorkommen sollten, die unabhängig vom Organantigen sind. Mit den beiden anderen Stämmen, BN in LEW.1N, hofften wir zu einer Abgrenzung einer hypothetischen, zusätzlichen TBM-spezifischen Reaktion gegenüber der 'Abstoßung' zu kommen.

Der Abstoßungsprozeß verläuft bei Lewis als Empfänger von AS-Nieren leichter als bei BN in LEW.lN, d.h. es versterben z.B. in der Beobachtungszeit von 6 Monaten keine Tiere. Das histologische Bild wird beherrscht von typischen rundzelligen Infiltraten, besonders herdförmig perivenös, wie man es für zelluläre Abstoßungsreaktionen kennt (12).

Bei LEW.lN ist dagegen bereits frühzeitig und etwas über- raschend, im Vergleich zu früheren Beobachtungen von THOENES (44) eine Panarteriitis festzustellen (Abb.28,29), die ähnlichen Befunden entspricht, wie sie auch für Trans- plantate beim Menschen beschrieben sind (8,12). Daneben findet sich ein diffus-verteiltes rundzelliges Infiltrat. In den ersten 30 Tagen nach Transplantation kommen in dieser Gruppe 9 von 13 Tieren ad exitum (Abb.17).

In den späteren Phasen, d.h. nach mehr als 30 Tagen, gleichen sich die Nieren der beiden Transplantationsgruppen, wenn man von den massiven, perivaskulär fibrosierten Arealen nach vaskulitischer Reaktion absieht. Im Interstitium sieht man eine Fibrose, die in beiden Gruppen diffus verteilt ist, jedoch bei AS/Lewis quantitativ stärker imponiert (Abb.15,30).

Nach der Schilderung dieser Befunde liegt die Feststellung nahe, daß die laborchemische gemessenen Funktionsstörungen der beiden Gruppen in den ersten 30 Tagen sehr verschieden sind, d.h. die schlechten Serum- und Harnwerte bei der BN/LEW.lN-Gruppe dürften Ausdruck der vaskulär behinderten Perfusion der Niere sein. In den späteren Phasen sind die Funktionsparameter der beiden Gruppen sehr ähnlich. Bemerkenswert ist allerdings wiederum, daß Lewis eine hohe Proteinausscheidung entwickelt, die bei LEW.lN nicht besteht. Das histologische Bild legt nahe, daß diese Proteinurie durch glomeruläre Abstoßungsveränderungen bedingt ist, die scheinbar paradoxerweise bei der vaskulär stärker betroffenen LEW.lN-Gruppe nicht entsprechend auftreten.

Als vorrangige Erklärung für die geschilderten Zusammenhänge

erscheint zunächst allein die Transplantatabstoßung einleuchtend zu sein, die sich quantitativ und örtlich verschieden ausgeprägt abspielt. Jedoch konnte -wie prinzipiell erwartet- bei BN/LEW.1N die TBM-Antikörperbildung und -ablagerung dennoch nachgewiesen werden und zwar bereits zu frühen Zeitpunkten (10 Tagen), so daß weiterhin offen bleiben mußte, welche Rolle diese Ak beim Gesamtgeschehen an diesen unerwartet stark veränderten Nieren haben könnten.

Es wurde deshalb versucht in einem nächsten Schritt die Abstoßungsreaktion zu mitigieren. Zum einen geschah dies durch spenderspezifische Bluttransfusionen (Enhancement) (1,45), zum anderen durch Implantation von semiallogenen F1(BNxLEW.1N)-Nieren. In der Enhancementgruppe überlebten alle transplantierten Tiere länger als zwei Monate und in der F1-Gruppe überlebten alle 10 Tiere den Beobachtungszeitraum von einem Monat. In der unbehandelten BN/LEW.1N-Gruppe waren dagegen nach einem Monat bereits mehr als 2/3 der Tiere verstorben. Für die Enhancementgruppe läßt sich vor allem gegenüber der BN/LEW.1N-Gruppe auch eine deutlich bessere Nierenfunktion zeigen. Ein Vergleich der Harnstoffwerte z.B. zeigt am 30. Tag bei BN/LEW.1N einen 5-fach höheren Wert als in der Enhancementgruppe. Der Grund für das spätere Ansteigen der Retentionswerte ist wohl in der verzögerten Manifestation der chronischen Abstoßung zu suchen. Ein besonderes Problem wird noch durch die hohe Proteinurie aufgeworfen. Histologisch liegt eine glomeruläre Schädigung (Matrixvermehrung, Schlingenobliterationen, Fibrinausfällungen) zugrunde. Diese Schädigung taucht in der "Normalsituation" nicht auf. Solche glomerulären Läsionen sind auch bei Enhancement-bedingter verzögerter Abstoßung über den MHC hinweg beschrieben (45) und dürften eine Abstoßungs-Glomerulopathie sein. Das histologische Bild bei der Enhancementgruppe gleicht im übrigen dem der F1-Gruppe sehr. Die interstitiellen Infiltrate sind in beiden Gruppen deutlich geringer (Abb.36,50) als in der unbehandelten

Gruppe. Es handelt sich ausschließlich um rundzellige Infiltrate die hauptsächlich perivenös lokalisiert sind. Riesenzellen oder Granulozyten sind jedoch nicht zu erkennen. Bei einigen der Enhancement-Tiere sieht man arterielle Läsionen wie sie bei den unbehandelten Empfängern als dominierend beschrieben wurden; sie haben hier ein deutlich geringeres Ausmaß. Die TBM-Ak-Bildung und -Ablagerung ist in beiden mitgierten Transplantationsmodellen weiterhin nachweisbar. Trotz dieses Basalmembranbefundes kann das histologische Bild nur als abgeschwächte chronische Transplantatabstoßung bewertet werden, die in Zellverteilung und -stärke etwa der AS/Lewis-Kombination gleicht. Zusätzliche Läsionen im Sinne der TBM-Ak-induzierten TIN sind nicht zu erkennen.

Prinzipiell gilt das für die Enhancement- und die Fl-Gruppe Gesagte auch für die Kombination BDV/LEW.1D. Dies sind ebenfalls MHC-identische Stämme von denen BDV das TBM-Ag trägt und LEW.1D der TBM-Ag-negative Stamm ist. Histologisch sind ebenfalls perivenöse rundzellige Infiltrate zu erkennen, immunhistologisch sieht man aber auch die abgelagerten TBM-Ak.

Obwohl durch diese abstoßungsmitigierenden Versuche die Beobachtungszeit verlängert wurde, konnte kein Anhalt dafür gewonnen werden, daß mögliche TBM-Reaktionen nun deutlicher in Erscheinung treten würden. Uns schien die Entscheidung darüber uns jedoch noch nicht ausreichend sicher möglich. Wir wendeten deshalb zur völligen bzw. weitgehenden Ausschaltung der Abstoßung die postnatale Toleranzinduktion und die medikamentöse Immunsuppression durch CyA an.

Funktionell haben die tolerant-gemachten Tiere eine gute Nierenfunktion. Für Differenzen der Funktionen im Vergleich zu untransplantierten Normaltieren ist wohl die Transplantationsischämie verantwortlich zu machen. Mikroskopisch zeigt sich bei alle Tieren ein praktisch unauffällige Niere (Abb.44,45). Der mittels allogener lymphoider Zellen erzeugte Toleranzzustand für das allgemeine organunabhängige

Transplantationsantigen ist voll wirksam geworden, erkennbar auch an den dauernd vitalen Hauttransplantaten. Damit wäre das Ziel erreicht gewesen, den TBM-Ak-Effekt frei von Abstoßung bewerten zu können. Gleichzeitig ist nun aber auch kein TBM-Ak mehr nachweisbar, weder im Serum noch am Transplantat. Die durch diesen Versuch offensichtlich gewordene Koppelung der generellen Histoinkompatibilitätsreaktion mit der TBM-assoziierten Alloimmunantwort ist als solche eine interessante Feststellung. Man könnte gerade in dieser Koppelung beider Reaktionsarten ein Argument dafür sehen, daß auch die TBM-Reaktion dort, wo sie sich abspielen kann, zum Abstoßungsprozeß beitragen müßte. Die gegebene Situation ermöglicht es aber deshalb gerade nicht, den TBM-Ak-Effekt allein zu untersuchen.

Im Falle der CyA-Behandlung ist ebenfalls eine deutlich bessere Nierenfunktion als bei der unbehandelten Gruppe zu erkennen; der Vergleich ist statistisch hoch signifikant und unterstreicht im übrigen eindrucksvoll die klinische Wirksamkeit des Medikamentes (Tab.5).

Histologisch ist der Abstoßungsbefund im Vergleich zu unbehandelten BN/LEW.1N-Gruppe bezüglich der zellulären Infiltrate deutlich geringer. Eine leichte Arteriitis tritt auch hier auf, sie ist vom Umfang her jedoch sehr gering. Im Vergleich zu den toleranten Tieren ist hier die Abstoßung also nicht beseitigt. Wie in der Toleranzgruppe kommt es aber auch in dieser Gruppe nicht zur TBM-Ak-Bildung. Immunhistologisch war lediglich in zwei von zehn Fällen eine sehr schwache Fluoreszenz entlang der TBM zu erkennen.

Auch bei diesem Experiment mit dem sich als sehr wirksam erweisenden Immunsuppressivum Cyclosporin A wird konkordant die TBM-Reaktion beseitigt die wir eigentlich untersuchen wollten. Die Frage nach der Relevanz der Antikörper und des organspezifischen Antigen ist somit durch diese Versuche nicht direkt zu beantworten.

In der bisherigen Diskussion wurde die Abstoßungsreaktion

der BN/LEW.lN-Kombination in verschiedenen Modifikationen untereinander und mit der Kombination AS/Lewis verglichen, bei der nicht mit einer TBM-Reaktion zu rechnen ist. Hinsichtlich des TBM-Ak ist aber ein weiterer Vergleich notwendig. Bei der autoimmunen TIN ist der TBM-Ak das erste auftretende Merkmal der Erkrankung und wird als erstes in der Niere sichtbar. Makroskopisch und histologisch ist die TIN ungewöhnlich charakteristisch (22,23). Etwa 8-10 Tage nach der Immunisierung mit TBM sind die Nieren geschwollen und weisen runde, konfluierende, lehmfarbene Herde auf. Histologisch handelt es sich um subkapsulär gelegene, teilweise betont fokale, interstitielle Infiltrate, die in den ersten Tagen vorwiegend aus Granulozyten bestehen. Als pathognomonisch wird für die TIN dann das Auftreten von Riesenzellen bezeichnet (Abb.7)(18,40). Das granulozytäre Infiltrat wird bald durch mononukleäre Zellen ersetzt und dann durch interstitielle Fibrose abgelöst. Im Vergleich dazu sind in der Transplantationssituation BN/LEW.lN und deren Modifikationen äußere Veränderungen an den Nieren nicht zu erkennen. Histologisch sind die Zellen nach Transplantation eher diffus verteilt. Granulozyten oder Riesenzellen werden nur höchst selten beobachtet. Die ganz vereinzelt auftretenden Riesenzellen sind so selten, daß sie nicht ausreichen, um daraus eine TIN-ähnliche Reaktion abzuleiten. Unter modifizierten Transplantationsbedingungen treten sie überhaupt nicht auf. Auch im Hinblick auf den Zeitpunkt der Ak-Bildung zeigt sich in beiden Gruppen ein gewisser Unterschied: Der TBM-Ak nach Autoimmunisierung tritt regelmäßig vor dem achten Tag auf, während in der Transplantationssituation ein Ak erst nach dem 10. Tag sicher nachgewiesen werden kann. Im letzteren Fall könnte dies mit dem Auftreten der Abstoßungsreaktion und dem damit verbundenen antigenen Stimulus zusammenhängen. Insgesamt zeigen die Bilder die nach Autoimmunisierung und nach Transplantation entstehen keine Gemeinsamkeiten.

An dieser Stelle könnte man einwenden, daß LEW.lN vielleicht

genetisch nicht in der Lage ist, eine Reaktion auszubilden, die zu einer TIN führt. Bei der Autoimmunisierung ist dies ja auch der Fall, d.h. LEW.1N kann wie beschrieben, keine Erkrankung an der eigenen Niere ausbilden, aber -wie wir zeigten- nur deshalb nicht, weil das TBM-Ag fehlt. Diesen Problemen gingen wir durch die Nachimmunisierung von transplantierten LEW.1N-Tieren nach. Im Falle der Nachimmunisierung von LEW.1N-Empfängern die eine Fl(BN $\times$ LEW.1N)-Niere (TBM-Ag-positiv) erhielten stellt man am 10. Tag nach Immunisierung eine eindeutige TIN fest. Makroskopisch werden die entsprechenden Veränderungen gesehen. Mikroskopisch sind Granulozyten, Riesenzellen und Tubulusdestruktionen vorhanden. Trotz der Überlagerung durch die Abstoßung erkennt man die fokalen Herde subkapsulär. Die Frage, ob LEW.1N in der Lage ist eine TIN zu entwickeln ist damit eindeutig positiv zu beantworten. Auch bei den toleranten Tieren wurde durch Nachimmunisierung eine TIN ausgelöst, jedoch könnte dies auch den verabreichten lymphoiden Zellen vom BN-Genotyp zugeschrieben werden (Zellchimärismus). Warum es bei der Nachimmunisierung von CyA behandelten Tieren nicht zur Ausbildung einer TIN kommt ist unklar. Wahrscheinlich war der Beobachtungszeitraum zu kurz, da bei Ratten auch nach dem Absetzen eines Medikamentes mit einer längerdauernden Immunsuppression gerechnet werden muß (10). Diese Frage wird in unserem Labor weiter untersucht.

Die Voraussetzungen sind bei LEW.1N also nach dem Gesagten gegeben, auf adäquate Stimulation mit TBM-Ag mit einer TIN zu reagieren. Daß in der Transplantationssituation zwar ein Ak gebildet wird, aber keine TIN resultiert sondern nur eine mehr oder weniger ausgeprägte Abstoßung, führt uns schließlich zu der Frage, inwieweit es denn gesichert ist, daß der TBM-Ak bei der klassischen TIN das entscheidende pathogenetische Prinzip darstellt. Es ist vorstellbar, daß es durch die Abstoßungsreaktion zu einer geringen

Freisetzung von TBM-Ag kommt. Dieses wird dem Immunsystem präsentiert und es kommt zu Bildung von Ak. Daß eine Abstoßungsreaktion zum Anstoß nötig ist, zeigt die Tatsache, daß der Ak bei der unbeeinflussten allogenen Transplantation, bei Enhancement und in der Gruppe mit den implantierten Fl-Nieren auftritt, während sich in der Toleranzgruppe und in der CyA-Gruppe keine Ak entwickeln.

Wie bei zahlreichen Auto-Ak des Menschen, für die es keinerlei Hinweis auf eine direkte Beteiligung an der Induktion der autoimmunen Erkrankung des Organes gibt, die uns aber gleichwohl als Diagnostikum dienen, könnte man auch bei der experimentellen TIN (und demzufolge dann auch bei der Abstoßung) die Mitwirkung dieser Antikörper in Zweifel ziehen. Das in diesem Zusammenhang heute häufig verwendete Wort "Epiphänomen" würde bedeuten, daß der TBM-Ak nur eine Begleiterscheinung eines anderen, bislang nicht genau faßbaren eigentlichen Pathomechanismus ist. Dieser Mechanismus könnte im zellulären Arm der Immunreaktion liegen. Die Mitwirkung der MHC-Ak am Abstoßungsvorgang, also der Ak gegen Alloantigene auf Zelloberflächen ist bisher nicht bewiesen und gilt höchstens für die second-set-Reaktion (sog. "white graft" bei Hautbiopsien) als ausschlaggebend. Die Entdeckung eines organspezifischen Alloantigen und einer Autoimmunkrankheit, die durch dieses selbe Antigen vermittelt wird, müßten keinesfalls bedeuten, daß hierbei dem Antikörper eine größere Bedeutung zuzumessen wären, als in den eben genannten anderen Situationen.

Man kommt auf diese Weise von der speziellen Situation der TBM-Reaktion bei Transplantaten zur sehr allgemeinen Frage nach der pathogenetischen Relevanz von Autoantikörpern im allgemeinen. Die Antwort auf diese Frage ist oft davon abhängig gemacht worden, ob durch passiven Transfer der Ak die Krankheit ausgelöst werden kann. Viele Autoantikörper in der Humanpathologie sind dazu nicht in der Lage. Bei der TIN bestehen widersprüchliche Erfahrungen zum Serumtransfer (6,7,14,57). Der Begriff der Antikörperabhängigen

zellulären Immunität ist ein in-vitro definiertes Prinzip, das dazu dienen könnte beide Faktoren des Immunsystems zusammenzuführen, durch das aber sicher nicht die alleinige Wirksamkeit zellulär-toxischer Faktoren aufgehoben wird, so daß auch ein Gewebeschaden ohne Antikörper denkbar bleibt.

Es überschreitet den Rahmen dieser Arbeit, ausführlicher zu diskutieren, ob die TIN zellulär vermittelt sein könnte. Wir zitieren diese Erkrankung und die daran zu prüfenden Probleme nur insofern, als deutlich gemacht werden soll, daß ein TBM-Ak-Reaktion während der Abstoßung auch aus der Sicht des autoimmunen Krankheitsmodells keinesfalls deren Mitwirkung an der Abstoßung des Organs bedeuten muß.

Durch Immunisierung von BN-Ratten unter CyA (THOENES, in Vorbereitung) konnte gezeigt werden, daß sich TBM-Ak bilden, die man auch immunhistologisch an der TBM nachweisen kann, ohne daß sich dabei eine TIN an der Niere abspielt. Dies ist vergleichbar den oben dargestellten Befunden bei LEW.1N unter CyA. Ein isoliert erzeugter Ak scheint demnach nicht in der Lage zu sein bei BN ein TIN auszulösen. Es ist denkbar, daß durch CyA der eigentliche zelluläre Pathomechanismus blockiert wird. NEILSON hat die entscheidende Rolle des zellulären Systems bei der Pathogenese der TIN herausgearbeitet (31-34). Meerschweinchen, denen Serum von an einer TIN erkrankten Tieren übertragen wurde und deren eigene Immunabwehr vorher durch Bestrahlung ausgeschaltet worden war, erkrankten erst an einer TIN, wenn das lymphozytäre System wieder rekonstituiert wurde. Wichtig in diesem Zusammenhang sind auch Befunde wonach das Infiltrat auch bei Ratten hauptsächlich auch T-Zellen besteht (23). Untergruppen der T-Lymphozyten sind für die Ag-Erkennung lange vor der Produktion von Ak verantwortlich (32). Untersuchungen TBM-Ag-positiver Rattenstämme nach TBM-Immunisierung zeigen, daß bei gewissen Stämmen trotz ein um 75% geringeren Ak-Produktion eine wesentlich schwerere TIN ausgelöst werden kann (30). NEILSON schließt auch daraus auf die geringe Bedeutung des Antikörper für die TIN (29).

5. Zusammenfassung

Seit längerer Zeit sind Antikörper gegen die TBM beim Menschen nach Nierentransplantationen bekannt. Ein ähnliches Phänomen findet man bei der Transplantation bestimmter Rattenstämme untereinander. Die Reaktion ist hierbei an ein organspezifisches Antigen gebunden, das einige Stämme an ihrer Niere tragen. Transplantiert man eine TBM-Antigen-positive Niere in einen TBM-Antigen-negativen Empfänger, so bildet der Empfänger Antikörper und lagert diese an der Niere ab. Antikörper und Immunhistologie lassen beim Menschen und bei der Ratte an eine Parallele zur autoimmunen tubulointerstitiellen Nephritis denken, die durch Immunisierung mit autologer oder heterologer Basalmembran an bestimmten Rattenstämmen ausgelöst werden kann.

Die vorliegende Arbeit geht der Frage nach, ob organspezifisches Antigen am Nierentubulus und Antikörper dagegen, Bedeutung für die Abstoßung haben.

Folgende Befunde können erhoben werden:

1. Die Transplantation einer Antigen-positiven Niere (BN) in einen Antigen-negativen Empfänger (LEW.1N) führt zur Bildung vom Tubulusbasalmembran-Antikörpern und deren Ablagerung in der Niere

2. Bei Enhancement durch spenderspezifische Blutgaben oder nach Implantation einer Fl-Hybridniere resultiert eine abgeschwächte Abstoßung, wobei der Antikörper gebildet wird.

3. Nach Induktion immunologischer Toleranz für die Spenderniere werden keine Tubulusbasalmembran-Antikörper mehr gebildet.

4. Die Applikation von Cyclosporin A verhindert die Antikörperbildung, nicht aber eine schwache Abstoßung.

5. LEW.1N ist in der Lage nach Autoimmunisierung eine Tubulointerstitielle Nephritis auszubilden.

6. Der Vergleich mit einer Stammkombination, bei der das

TBM-Antigen keine Rolle spielt (TBM-Ag negativer Spender und Empfänger), zeigt vor allem mit den abgeschwächten Transplantatsituationen, Gemeinsamkeiten.

7. Gemeinsamkeiten der Transplantationsreaktion mit einer TIN sind, außer dem gebildeten und abgelagerten Antikörper, nicht zu erkennen.

Die Bildung der organspezifischen Transplantations-Antikörper ist mit der allgemeinen Histoinkompatibilitätsreaktion zwischen Spender und Empfänger gekoppelt. Das Ergebnis der vorgelegten Untersuchung besteht in der Erkenntnis, daß organspezifische Transplantationsreaktionen keine nachweisbaren zusätzlichen Schädigungen des Transplantats verursachen.

6. Literaturverzeichnis

- (1) Abbas,A.K., Corson,J.M., Carpenter,C.B., Strom,T.B.,
Merill,J.P., Dammin,G.J.: Immunologic Enhancement
of Rat Renal Allografts
Am.J.Pathol. 79,2:256, 1975
- (2) Bannister,K.M., Ullich,T.R., Wilson,C.B.: Cell Mediated
Tubulointerstitial Nephritis (TIN) in the Lewis (LEW)
Rat, Abstract
Kidney int. 28, 1985
- (3) Bergstein,M.D., Litman,N.: Interstitial Nephritis with
Anti-Tubular-Basement-Membrane-Antibody
N.Engl.J.Med. 292:875, 1975
- (4) Billingham,R.E.: The Induction of Tolerance of
Homologous Tissue Grafts. in: Billingham,R.E. and
Sillers,W.K., Transplantation of Tissues and Cells.
The Wistar Institute Press, Philadelphia 1964,87
- (5) Borel,J.F.: Cyclosporin A: Present experimental Status
Transplant.Proceed. 13:344, 1981
- (6) Brown,C.A.,Carey,K.,Colvin,R.B.:Inhibition of an Auto-
immune Tubulointerstitial Nephritis in Guinea Pigs
J.Immunol. 123:2102, 1979
- (7) Delius,M.: Untersuchungen zur Pathogenese der
Tubulointerstitiellen Nephritis der Ratte
Inaugural Dissertation, München 1983
- (8) Dunhill, M.S.: Histopathology of Rejection in Renal
Transplantation
Kidney Transplantation, edited by Morris,P.J., 1984

- (9) Erhard,D., Moulouguet-Doleris,D., Auffredou,M.T.,
Graindorge,P., Mahieu,P., Galanaud,P., Dormont,J.:
Specificity of Antibodies to Heterologous Glomerular
and Tubular Basement Membranes in BALB/c Mice
Clin.exp.Immunol. 38:259, 1979

- (10) Fabre,J.W.: Rat Kidney Allograft Modell: Was ist all to
good to be true?
Transplantation, 34,4:223, 1982

- (11) Günther,E., Stark,O.: The Major Histocompatibility
System of the Rat (AgB or H-1 System).
In: Götze,D.: The Major Histocompatibility System
in Man and Animals. Berlin, 1977

- (12) Hamburger,J., Domount,J.: Functional and Morphologic
Alterations in Longterm Kidney Transplants
In: Rapaport,F.T., Dausset,J.:Human Transplantation
201,1968

- (13) Hart,D.N.J, Fabre,J.W.: Kidney Specific Alloantigen
System in the Rat Kidney
J.Exp.Med., 151:651, 1980

- (14) Hyman,L.R., Steinberg,A.D., Colvin,R.B., Bernard,R.F.:
Immunopathogenesis of Autoimmune Tubulointerstitial
Nephritis. I. Demonstration of Differential
Susceptibility in Strain II and Strain XIII Guinea
Pigs
J.Immunol., 116,2:327, 1976

- (15) Klassen,J., Milgrom,F., Kano,K., Memo,A.B., Anthone,S.,
Anthone,R.,Sepulveda,M., Ellwood,C.M., Andres,G.A.:
Tubular Lesions Produced by Autoantibodies to TBM
in Human Renal Allografts
Int.Arch.Allergy.Appl.Immunol. 45:675, 1973

- (16) Krieger, A.: Experimentelle autoimmune tubulointerstitiellen Nephritis
Inaugural Dissertation, München 1979
- (17) Krieger, Thoenes, Günther: Genetic Control of Autoimmune TIN
Clin.Imm.Immunopathol. 21:301, 1981
- (18) Langer, K.H., Thoenes, W.: Endocytotic Activity in Epitheloid and Langhans' Giant Cells
Virchows Arch. 47:177, 1984
- (19) Lee, S.: An Improved Technique of Renal Transplantation in the Rat
Surgery, 61,5:771, 1967
- (20) Lehmann, D.H., Lee, S., Wilson, C.B., Dixon, J.F.: Induction of Anti-TBM Antibodies in Rats by Renal Transplantation
Transplantation, 17:429, 1974
- (21) Lehmann, D.H., Marquart, H., Wilson, C.B., Dixon, J.F.: Specificity of Antibodies to Tubular and Glomerular Basement Membranes Induced in Guinea Pigs
J.Immunol. 112:241, 1974
- (22) Lehmann, D.H., Wilson, C.B., Dixon, J.F.: Interstitial Nephritis in Rats Immunized with Heterologous TBM
Kidney Int. 5:187, 1974
- (23) Mampaso, F.M., Wilson, C.B.: Characterisation of Inflammatory Cells Tubulointerstitial Nephritis in Rats
Kidney Int. 23:448, 1983
- (24) Mancilla-Jaminenz, R., Katzenstein, A.L., Hertier, F.,

Anderson,C.B.: Antitubular Basement Membrane
Antibodies in Renal Allograft Rejection
Transplantation 24,1:39, 1977

- (25) McCluskey,R.T.: Immunologically Mediated Tubulo-
interstitial Nephritis
In: Cortran,R.S., Brenner,B.M., Stein,J.H.: Tubulo-
interstitial Nephropathies, 1983, S.121
- (26) McCoy,R.C., Johnson,H.K., Stone,W.J., Wilson,C.B.:
Absence of Nephritogenic GBM Antigens in some
Patients with Hereditary Nephritis
Kidney Int. 21:642, 1982
- (27) Mori,S., Kano,K., Milgrom,F.: Humoral Antibody Response
in Rat Renal Allotransplantation
Transplantation 23,2:128, 1977
- (28) Morris,P.J.: Cyclosporine
In: Morris,P.J.: Kidney Transplantation, 1984
- (29) Neilson,E.G.: T Cell Regulation, Antiidiotypic Immunity
and the Nephritogenesis of the Immune Response
Kidney Int. 24:289, 1983
- (30) Neilson,E.G., Gasser,D.C., McCafferty,E., Zakheim,B.,
Phillips,S.M.: Polymorphism of Genes Involved in
Anti-Tubular Basement Membrane Disease in Rats
Immunogenetics 17:55, 1983
- (31) Neilson,E.G., Phillips,M.: I. T Lymphocyte Systems in
Nephritic Guinea Pigs: The Natural History and
Diversity of the Immune Response
J.Immunol. 123:2373, 1979
- (32) Neilson,E.G., Phillips,M.: II. T Lymphocyte Effector

Mechanisms in Nephritic Guinea Pigs: Analysis of the Renotropic Migration and Cytotoxic Response
J.Immunol. 123:2381, 1979

- (33) Neilson,E.G., Jimenez,A., Phillips,M.: III. T Lymphocyte Mediated Fibroblast Proliferation and Collagensynthesis: An Immune Mechanism for Renal Fibrogenesis
J.Immunol. 125:1708, 1980
- (34) Neilson,E.G., Phillips,M.: IV. Anti-Tubular Basement Membrane Antibodies Can Function in Antibody Dependent Cellular Cytotoxicity Reactions: Observations on a Nephritogenic Effector Mechanism Acting as an Informational Bridge between the Humoral and Cellular Immune Response
J.Immunol. 126:1990, 1981
- (35) Paul,L.C., Carpenter,C.B.: Antigenic Determinants of Tubular Basement Membranes and Bowmann's Capsule in Rats
Kidney Int. 21:880, 1982
- (36) Paul,L.C., van ES,L.A., Stuffers-Heimann,M., de la Rivere,G.B., Kalff,M.W.: Antibodies Directed against Tubular Basement Membranes in Human Allograft Recipients
Clin.Immunol.Immunopathol. 14:231, 1979
- (37) Rudofsky,U.H., Philip,R.B., Pollara,B.: Studies on the Pathogenesis of Experimental Autoimmune Renal Tubulointerstitial Disease in Guinea Pigs
Immunol. 60:398, 1979
- (38) Silvers,W.K., Billingham,R.E.: Influence of the Ag-B Locus on Reactivity of Homografts and Tolerance

Responsiveness in Rats
Transplantation 8:167, 1969

- (39) Steblay, W.R., Rudofsky, U.: Renal Tubular Disease and Antibodies against Tubular Basement Membrane Induced in Guinea Pigs
J. Immunol. 107, 2:589, 1971

- (40) Sugisaki, T., Klassen, J., Milgrom, F., Andres, G.A., McCluskey, R.T.: Immunopathologic Study of an Autoimmune and Interstitial Renal Disease in Brown Norway Rats
Lab. Invest. 28, 6:658, 1973

- (41) Sugisaki, T., Kano, K., Andres, G., Milgrom, F.: Antibodies to Tubular Basement Membrane Elicited by Stimulation with Allogenic Kidney
Kidney Int. 21:557, 1982

- (42) Sugisaki, T., Yoshina, T., McCluskey, R.T., Andres, G.A., Klassen, J.: Autoimmune Cell Mediated Tubulointerstitial Nephritis Induced in LEW Rats by Renal Antigens
Clin. Immunol. Immunopathol. 15:33, 1980

- (43) Tatsch, K.: Vergleichende experimentelle Untersuchungen über die Bedeutung des Interstitium für die Nierenfunktion
Inaugural Dissertation, München, 1985

- (44) Thoenes, G.H., Krieger, A., Pielsticker, K.: Evidence for Organspecific Alloantigens
Transplant. Proceed. 12, 3:1604, 1979

- (45) Thoenes, G.H., Pielsticker, K., Schreiber, M.A.: Blood-Transfusion Induced Facilitation of Kidney

Graft Survival in Rats (Congenic-Resistant Strains)

Nephrology 13,3:133, 1980

- (46) Thoenes, G.H., Urban, G., Döring, I.: Kidney Transplantation between Congenic versus Standart Inbred Strains of Rats: I. The Significance of H-1 and Non H-1 Gene Differences
Immunogenetics 3:239, 1974
- (47) Ulich, T.R., Bannister, K.M., Wilson, C.B.: Tubulointerstitial Nephritis Induced in the Brown Norway Rat with Chaotropically Solubilized Bovine Tubular Basement Membrane: The Model and the Humoral and Cellular Responses
Clin.Immunol.Immunopathol. 36:187, 1985
- (48) Wassef, R., Cohen, L., Langer, B.: Pharmakokinetic Profiles of Cyclosporine in Rats
Transplantation 40,5:489, 1985
- (49) Williams, R.J., Eyres, K., Mallick, N.P., Orr, W.M., Taylor, G., Williams, G.: Allograft Immunity to Histocompatibility and Organspecific Antigens
Transplantation 21,3:188, 1976
- (50) Wilson, C.B.: Individual and Strain Differences in Renal Basement Membrane Antigens
Transplant.Proceed. 12,3,1:69, 1980
- (51) Wilson, C.B., Lehmann, D.H., McCoy, R.C., Gunnels, J.C., Stickel, D.L.: Antitubular Basement Membrane Antibodies after Renal Transplantation
Transplantation 18,5:447, 1974

Danksagung

Herrn Prof. Dr. G. H. Thoenes danke ich für die Überlassung des Dissertationsthemas, seine Anleitung und Unterstützung bei dieser Arbeit und für die immer vorhandene Diskussionsbereitschaft.

Herrn Prof. Dr. K. H. Langer, Abteilung für Pathologie, Hoechst AG, gilt mein besonderer Dank für die Anfertigung und zum Großteil auch Befundung der histologischen Präparate.

Mein besonderer Dank gilt meinen Brüdern Peter und Herbert für die Hilfe bei der Erstellung des Manuskriptes.

Nicht zuletzt möchte ich den Mitarbeitern des Labors für die freundliche Aufnahme und Unterstützung danken.

Lebenslauf

- 22.12.1958 geboren in Dorfprozelten als Sohn von Karl Umscheid, Schneider, und seiner Ehefrau Anni, geborene Springer
- 1965-1969 Besuch der Volksschule in Dorfprozelten
- 1969-1978 Besuch des Johannes-Butzbach-Gymnasiums in Miltenberg
- Juni 1978 Abitur
- 1978-1979 Grundwehrdienst
- 1979 Studium der Agrarwissenschaften
- 1980-1986 Studium der Humanmedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität, München
- April 1986 Ärztliche Prüfung und Approbation
- 1982-1986 Doktorand bei Herrn Prof. G.H. Thoenes im Immunbiologischen Labor der Medizinischen Klinik Innenstadt der Ludwig-Maximilians-Universität München

